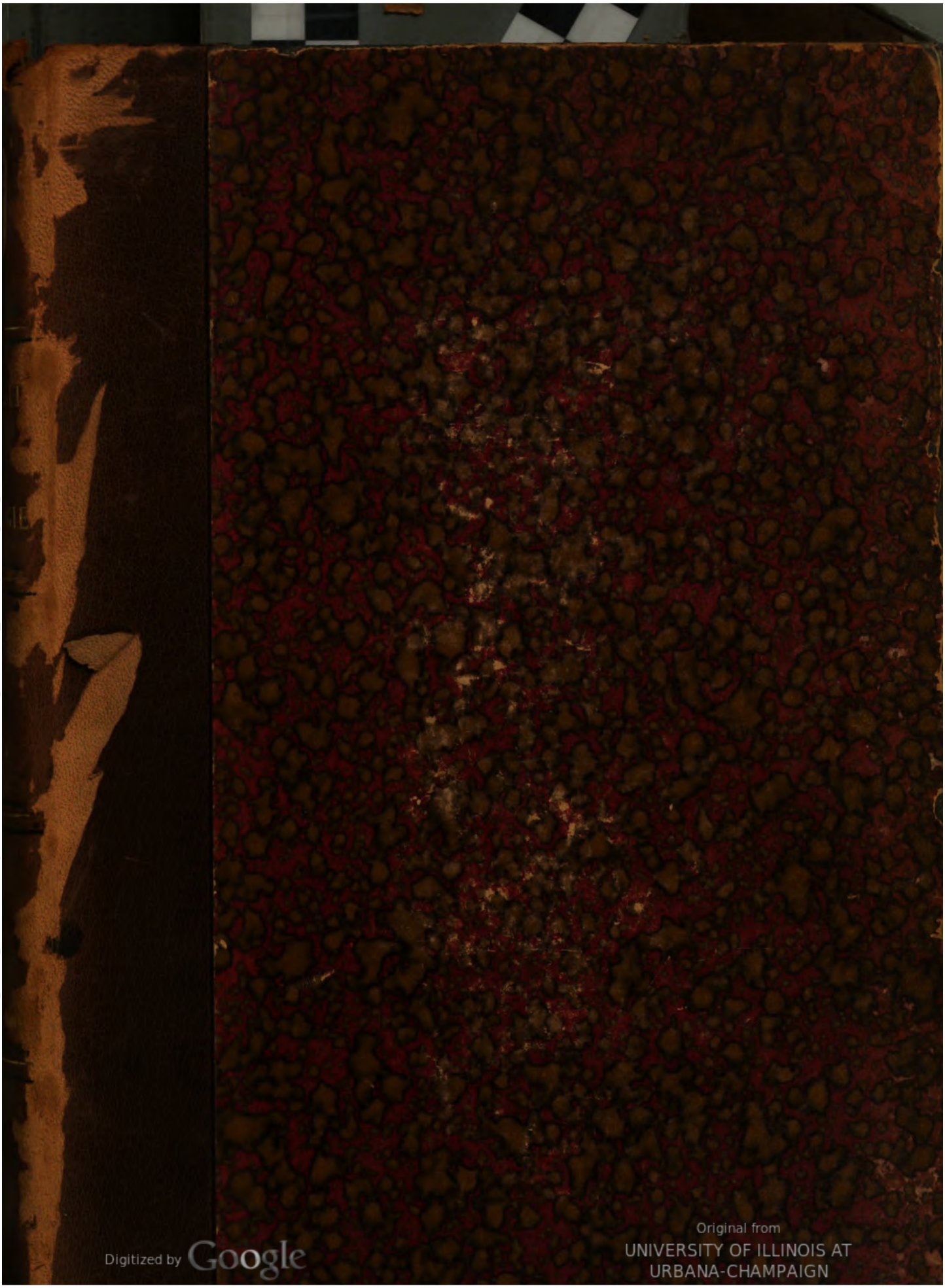

Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 14:37 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

his book has been DIGITIZED
and is available ONLINE

THE UNIVERSITY
OF ILLINOIS
LIBRARY

589.05
C E
v.73

BOTANY
DEPARTMENT
BIOLOGY

Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-15 14:37 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Return this book on or before the
Latest Date stamped below.

University of Illinois Library

SEP 18 1968

L161—H41

Digitized by Google

Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-15 14:37 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Generated on 2019-09-15 14:37 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Digitized by Google



Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

CENTRALBLATT

für

Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten

Erste Abteilung. 73. Band

Originale

Digitized by Google

Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-15 14:37 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Generated on 2019-09-15 14:37 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Digitized by Google

Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

CENTRALBLATT

für

Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten

In Verbindung mit

Prof. Dr. F. Loeffler
Geh. Obermed.-Rat in Berlin

Prof. Dr. R. Pfeiffer
Geh. Med.-Rat in Breslau

und

Prof. Dr. M. Braun
Geh. Reg.-Rat in Königsberg

herausgegeben von

Prof. Dr. O. Uhlworm und Dr. A. Weber
Geh. Reg.-Rat in Berlin — Geh. Reg.-Rat in Berlin-Lichterfelde

Erste Abteilung. 73. Band

Medizinisch-hygienische Bakteriologie
und tierische Parasitenkunde

Originale

Mit 21 Tafeln und 30 Abbildungen im Text



Jena
Verlag von Gustav Fischer
1914

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 14:37 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Generated on 2019-09-15 14:37 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Digitized by Google

Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

589.05
C E
v. 73

Centralbl. f. Bakt. etc. I. Abt. Originale. Bd. 73. Heft 1.
Ausgegeben am 11. Februar 1914.

Nachdruck verboten.

Studies in avian tuberculosis.

[Laboratory of Bacteriology and Hygiene, Michigan Agricultural College, East Lansing, Michigan.]

By **L. R. Himmelberger.**

With 1 plate.

The most of the work done with tuberculosis has been restricted to tuberculosis in man and cattle. In recent years, the widespread character of this affection in chickens has attracted much attention and is now the object of investigation by many workers. While the literature dealing with avian tuberculosis is considerable, it is mostly of a popular or semi-popular nature. No attempt will be made to review this literature except as it has a direct bearing on our own problems.

While the cultural and morphological characteristics had been well worked out by Moore (1) and others, it was thought best to devote some study to this matter so as to better familiarize ourselves with the habits of the organism involved. While so engaged, it was noticed that a much more rapid and more luxuriant growth was obtained on potato media than on any other. This is contrary to the statements of others, but may be accounted for by the difference in individual strains used. While abundant growth was obtained on potato slants in two to four weeks, no growth was visible on ordinary or glycerinated agar under six or eight weeks. Growth on glycerinated and plain potato broth was abundant in four weeks while on the surface of glycerinated meat bouillon no growth was obtained under eight or nine weeks. This evident preference for vegetable media led us to try other common vegetables and fruits as media. Accordingly slants were made, in the same way as with potato, of bananas, turnips, carrots and the common garden beet. With the exception of the banana all were glycerinated, by being immersed in a 25% glycerin solution for four hours. These slants were then put in tubes with moist cotton in the bottom and sterilized by heating in flowing steam for four successive days.

Inoculations were made with Bact. tuberculosis (avian) on each kind of medium and daily observations made. The differences obtained were quite marked as regards the character of the growth. A brief description of the cultural characteristics is given; however, they cannot be said to be invariably constant because of an insufficient number of cultures having been grown on each medium.

Potato (glycerinated).

1) Extent of growth: Varies on different tubes; usually abundant after four weeks.

2) Form of growth: Raised and roughened, becoming verrucose after the fifth or sixth week, when growth is abundant. This is not constant in all tubes.

3) Chromogenesis: When growth first appears, no color is apparent, but as growth continues a yellow to orange color is produced.

4) Consistency of growth: First growth presents a coriaceous consistency which becomes brittle with age.

5) Medium: Not changed.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 14:37 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Banana.

1) Extent of growth: Moderate; first appears in 3 weeks.
2) Form of growth: Raised, slightly contoured, convex.
3) Chromogenesis: In early growth, no color is apparent, but later it becomes a very light brownish yellow.
4) Consistency of growth: Butyrous.
5) Medium: Not changed.

Carrot (glycerinated).

1) Extent of growth: Moderately abundant in two weeks.
2) Form of growth: Roughened with globose surface. Raised, slightly undulating margin.
3) Chromogenesis: Yellow.
4) Consistency: Butyrous, though not so marked as in the case of banana.
5) Medium: Not changed.

Turnip (glycerinated).

1) Extent of growth: Scanty growth in 3 weeks.
2) Form of growth: Grows in single colonies which invaginate and evaginate alternately as growth continues, thus becoming larger and more raised. The margins are undulating and the surface contoured.
3) Chromogenesis: Light greyish to white.
4) Consistency: Coriaceous.
5) Medium: Not changed.

Garden beet (glycerinated).

1) Extent of growth: Abundant in two weeks.
2) Form of growth: Tendency to spread. Surface presents a bullate condition, the size of the blister-like particles varying. Some portions present a form described as umbonate and later the projection extends vertically, bends over and again touches the surface of the medium. This is often difficult to discern without the aid of a hand lens.
3) Chromogenesis: Grey to yellow.
4) Consistency: Viscid.
5) Medium: Not changed.

II. Transmissibility experiments.

The study of the transmissibility of avian tuberculosis is of great interest and has been the basis of much work. Edwards (2) fed the droppings from tubercular hens to seven supposedly healthy birds four of which died within six months and on autopsy tubercular lesions were found in all. This is in a way contradictory to the findings of Straus (3) who endeavored, without success, to infect chickens by ingestion, one bird being subjected to a year of such experimentation. Prof. Edwards was also able to demonstrate microscopically the presence of the tubercle bacilli in the fecal matter of infected birds.

Experiments concerning the transmissibility of this type of tuberculosis to other animals have given varying results.

de Jong (4) found rabbits to be susceptible to the avian type of bacilli to a considerable degree but guinea pigs not so much so. He reports the finding of this type of the organisms in a spontaneous case of tuberculosis in a rabbit and also in swine inspected at slaughter.

Mohler (5) has successfully transmitted the disease to swine by feeding carcasses of tubercular chickens as has also Hastings (6), who followed much the same procedure as did Mohler.

Edwards (2) inoculated six guinea pigs with pure cultures of the organism. Three guinea pigs showed inextensive lesions of the disease on autopsy one hundred days after inoculation; the other three pigs remained apparently healthy. He also inoculated six guinea pigs with

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 14:37 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

diseased tissue from tubercular hens. Two of these showed no signs of infection when killed and autopsied eighty days after inoculation. The remaining four appeared to continue healthy.

Hastings and Halpin (6) succeeded in infecting a series of guinea pigs by inoculating material from a diseased bird and inoculating each successive animal of the series from the one preceding. Moore (7) found that inoculations made into guinea pigs seemed to produce death without the presentation of visible lesions. M. Koch (8) had much the same experience.

In February of 1912, an opportunity was afforded us to make some limited studies of this disease. A flock of sixty hens was received for examination at this laboratory. Nine of the most emaciated and suspicious were reserved for study; the rest were slaughtered and on autopsy showed the specific lesions in 19% of the cases. The nine supposedly tubercular birds form the basis of our studies.

It was our desire to obtain if possible some information on the transmissibility of this disease to normal chickens and to other animals. Accordingly, the birds were put in individual numbered pens and a pen of three white rats assigned to each. The plan was to keep the hens in their original pens for one week and then change them and their respective pen of rats about, this transfer to be made once each week, the pens were not to be cleaned so as to subject the rats to infection from the fecal material in the pens.

This experiment was allowed to run for seven months, when the rats were killed and autopsied.

As stated above, the original number of rats assigned to each bird was three. At the time of the termination of the experiment, however, the number had been increased by the birth of young in some of the pens during the course of the experiment. The numbers in each pen are given with the time of birth of the young animals.

Results on post mortem examination.

Hen No. 1: Three rats all appeared to be normal on autopsy.

Hen No. 2: Ten rats, seven young born during the third week of the experiment. On autopsy, two showed the presence of Cyst. fasciolaris in the liver. All other organs of these and all of the remaining animals appeared to be normal on autopsy.

Hen No. 3: Eight rats, five were born during the fifth week of the experiment. The liver of one rat from this pen showed the presence of a fatty focus in right lobe. The liver of another contained a Cyst. fasciolaris. No lesions of tuberculosis were found in any of the organs of these two rats. The remaining animals appeared normal.

Hen No. 4: Six rats. Three born during ninth week of experiment. All of these animals appeared to be normal.

Hen No. 5: Seven rats. Four born during first week of experiment. Two of the animals in this pen were affected with Cyst. fasciolaris in the liver but were otherwise normal. Remaining animals normal.

Hen No. 6: Three rats; normal.

Hen No. 7: Three rats; normal.

Hen No. 8: This hen died in the first week of the experiment.

Hen No. 9: Three rats; normal.

Hen No. 1 was killed at the termination of the experiment because of injuries. No indications of the disease were manifest on post mortem examination. She was in a badly emaciated condition and comb and wattles were very anemic, thus exhibiting clinical indications of infection.

Hen No. 2: Killed at end of experiment. Liver, spleen, gizzard and intestines were badly affected. Bact. tuberculosis demonstrated microscopically.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 14:37 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Hen No. 3: Died in fifth week of experiment. Liver, spleen, and intestines badly diseased. Microscopic examination was positive.

Hen No. 4: Killed three months after end of experiment. No indications of disease. Presented same condition as hen No. 1.

Hen No. 5: Died at end of fifth month of experiment. No evidence of infection on post mortem examination. Bird greatly emaciated and presented a condition similar to that of hens Nos. 1 and 4.

Hen No. 6: Died two months after end of experiment. Heart slightly affected. Lungs, liver, spleen, and intestines badly diseased. Tubercle bacilli found in stained preparations.

Hen No. 7: Died six months after end of experiment. Liver thickly studded with miliary tubercles. Spleen badly diseased.

Hen No. 9: Died six weeks after termination of experiment. No indication of tuberculosis. Greatly emaciated etc. as in case of Hens Nos. 1, 4 and 5.

The fact that, in the case of hens Nos. 1, 4, 5 and 9 no lesions were visible does not exclude the possibility of the birds' being tubercular. Histo-pathological preparations of the lungs of hen No. 4 (Fig. 1) show the presence of immense numbers of tubercle bacilli distributed throughout the tissue, still no macroscopical lesions were present. de Jong (5) speaks of a case of this nature as an "infiltrated tuberculosis" or the "Yersin" type of the disease.

During the course of this experiment a collection of droppings was made and swabs of the cloaca taken for microscopical examination. In the case of the droppings, we were at no time able to demonstrate the presence of Bact. tuberculosis, even by the antiformin method of examination. Smears made from the swabs gave negative results in every case at every trial.

Inoculations of pure cultures into rats, rabbits and guinea pigs.

While our work in this connection is extremely limited, it may be well to record it.

Two rats, two rabbits and two guinea pigs were inoculated subcutaneously with 5 c. c. each of a potato broth culture of the avian type of Bact. tuberculosis.

The rats were killed one month after inoculation and appeared normal on post mortem examination. The rabbits and guinea pigs were killed two months after inoculation. Both guinea pigs and one rabbit appeared to be free from the disease on autopsy, while the other rabbit presented a small abscess at the point of inoculation. Microscopical preparations from this abscess showed the presence of Bact. tuberculosis. No other evidence of infection was found.

Three rabbits received an intravenous injection of 2 cc. each of a suspension of macerated tubercular material from a diseased hen. When these were killed two months after the inoculation, no evidence of infection was found, either macroscopically or microscopically.

Infection of calves by ingestion of macerated organs of tubercular hens.

On May 12th, 1912, two calves, one week old, were obtained and on May 17th were fed, in milk, the macerated tubercular organs of hen No. 3. The calves were twins, whose mother had given no reaction to the tuberculin test. They were fed milk from a herd of cows free from tuberculosis, the herd having been subjected repeatedly to the tuberculin test. On July 5th, one of the calves died suddenly from acute

Generated on 2019-09-15 14:37 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

tympanites. No effects of the ingested tubercular material could be found on autopsy.

The other calf which will be designated as calf No. I, was tested July 16th and 17th by the subcutaneous injection of 3 cc. of avian tuberculin. In the preparation of the tuberculin used, a pure culture of the avian type of Bact. tuberculosis was grown on non-glycerinated potato broth for eight weeks, then sterilized in flowing steam for one hour, filtered and concentrated to one-tenth of its original volume over a water bath at 60° C.

This concentrated solution was then diluted with nine volumes of water and preserved with 0.5% phenol. A normal calf approximately the same age was also tested as a control. The temperatures obtained before and after injection are given in the following table:

Table I.

	Temperatures before injection				No. cc. injected at 8 pm.	Temperatures after injection						
	2 pm.	4 pm.	4 pm.	8 pm.		4 am.	6 am.	8 am.	10 am.	12 m.	2 pm.	4 pm.
Calf No. I	102.2	102.3	102.2	102.6	3 cc.	105.2	105.0	104.3	105.5	106.0	106.0	105.2
Control	101.0	101.7	101.7	101.8	3 cc.	101.6	101.1	101.0	101.5	101.4	101.4	—

The reaction obtained would seem to indicate the presence of infection, but we wished to secure further data before killing the animal, so this is the only evidence of infection that we have at this time, one month after inoculation.

On September 24th and 25th, the calf was again subjected to the subcutaneous tuberculin test, using, however, ordinary tuberculin obtained from the Bureau of Animal Industry, Washington, D. C. A record of the test is given in Table II.

Table II.

Temperatures before injection						No. cc. injected at 9 pm.	Temperatures after injection						
11 am.	1 pm.	3 pm.	5 pm.	7 pm.	9 pm.		5 am.	7 am.	9 am.	11 am.	1 pm.	3 pm.	5 pm.
101.2	101.4	101.6	101.8	102.6	101.9	3 cc.	101.9	101.6	102.5	102.7	102.0	101.2	—

The absence of a reaction in this test is of much interest, as it seems to indicate a distinct difference between the avian and mammalian organisms with regard to the products of their growth. The objection may be raised that not enough time had elapsed between the first and this test to allow the animal to recover from the effects of the first injection of tuberculin. This point will be considered later.

December 12th, 1912, the calf was again tested with avian tuberculin prepared in the same manner as that used in the test in Table I.

Table III.

	Temperatures before injection				No. cc. injected at 10 pm.	Temperatures after injection					
	10 am.	2 pm.	4 pm.	10 pm.		6 am.	8 am.	10 am.	12 m.	2 pm.	4 pm.
Calf No. I	101.1	101.3	102.2	102.4	3 cc.	102.8	104.4	104.6	104.8	105.0	104.3
Control	102.2	102.3	101.8	102.4	3 cc.	102.2	101.9	102.2	102.0	102.8	102.2
											102.4

Generated on 2019-09-15 14:38 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

A normal calf was again used as a control, with the results as recorded in Table III.

The reaction given here confirms the one given in Table I. The time elapsing between the first test where avian tuberculin was used and the second where mammalian tuberculin was used was seventy-one days while the time between the second test and the last was nearly the same, seventy-five days. Still, the dose of ordinary tuberculin did not seem to interfere with the effect of the avian tuberculin. The animal's reacting to the last test, seems to support the view taken previously in this paper that a difference exists between these two types of the tubercle bacilli as regards the products of their metabolism. True, the evidence is only fragmentary, but serves well as an incentive to a further investigation of this interesting question.

December 14th, 1912, the calf was killed and autopsied, the results of which are given below:

Duodenum: Normal.

Jejunum: Small tubercle in first part, about 3 mm. in diameter.

Ileum: Two tubercles adjacent, 1 cm. and 1 mm. respectively in diameter, in the wall of the intestine. Small abscess $^1/_2$ cm. opening on mucous membrane. Numerous elevations present, varying in size and projecting into lumen of intestine. They present a punctiform opening at the apex and contain a cheese-like pus (Fig. 4).

Mesentery and lymph nodes: Mesentery normal; lymph nodes of duodenum normal; lymph nodes opposite jejunum contain one small tubercle $^1/_2$ cm. in diameter. All lymph nodes off ileum contain large tubercles. Gland adjacent to ilio-caecal orifice badly involved. Meso-colic glands normal.

All the other organs of the animal are normal.

Our findings on autopsy are in harmony with the results of the tuberculin tests, which they confirm. An interesting point was the nature of the intestinal lesions; they resembled very closely in form the intestinal lesions found by us in chickens. However, they proved to be small abscesses in which we were unable to demonstrate the presence of the tubercle bacterium microscopically. In the diseased lymph glands, however, we were able to do this with ease (Fig. 3). The absence of the bacilli in the intestinal lesions may be accounted for by the presence of immense numbers of polymorphonuclear leucocytes (Fig. 2). One would expect however to find them in the normal tissue of the intestinal wall immediately surrounding the lesions, but this we were unable to do. In all histo-pathological preparations of diseased organs such as the liver, spleen and lungs of chickens examined, we observed the presence of the bacilli only in the tissue immediately surrounding the tubercular lesion and never in the center of the tubercle. In view of this observation, we were led to expect the presence of the bacilli in the apparently healthy tissue surrounding the intestinal lesion.

Calf No. II.

December 3rd, 1912, another calf was fed in the same way as the previous cases, the tubercular material being the diseased organs of hen No 6. The calf was two weeks old when fed the material. Its mother had been subjected to the tuberculin test one week before its birth with no reaction resulting.

Jan. 31, 1913, the calf was tested with ordinary tuberculin with the negative results as shown in the following table.

March 4th, the calf was again tested using tuberculin made from a 4 weeks growth of Bact. tuberculosis (avian) on potato broth.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 14:38 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Table IV.

	Temperatures before injection						Time of injection	Amount of tuberculin injected	Temperatures after injection						
	12 m.	2 pm.	4 pm.	6 pm.	8 pm.	10 pm.	12 m.		7 am.	9 am.	11 am.	1 pm.	3 pm.	5 pm.	6 pm.
Calf No. II	101.4	102.5	102.1	102.7	101.4	101.8		3 cc.	101.8	102.3	102.2	101.6	101.6	101.8	102.0

The following result is, no doubt, of questionable value because of the youth of the culture:

Table V.

	Temperatures before injection					Time of injection	Amount of tuberculin injected	Temperatures after injection						
	3 pm.	5 pm.	7 pm.	9 pm.	11 pm.	11 pm.		6 am.	8 am.	10 am.	12 m.	2 pm.	4 pm.	6 pm.
Calf No. II	101.9	101.4	101.0	101.8	101.9		3 cc.	103.2	100.6	102.6	102.8	102.6	101.1	102.6

March 29th, the calf was again tested with avian tuberculin, made from a six weeks old culture of the avian bacterium on glycerinated potato broth, with no reaction resulting as shown in Table VI:

Table VI.

	Temperatures before injection						Time of injection	Amount of tuberculin injected	Temperatures after injection							
	9 am.	11 am.	1 pm.	3 pm.	5 pm.	7 pm.	9 pm.		4 am.	6 am.	8 am.	10 am.	12 m.	2 pm.	4 pm.	6 pm.
Calf No. II	102.4	102.4	102.2	102.2	102.8	102.2		3 cc.	102.2	102.6	102.6	102.6	102.8	102.8	103.0	102.6

March 31, 1913, the calf was slaughtered and on autopsy no evidences of infection resulting from the ingested tubercular material were found.

Calf No. III.

December 15th, we injected subcutaneously 10 cc. of a suspension made from a macerated tubercular lymph gland from calf No. I. The temperature of the animal was taken before inoculation, and post-inoculation temperatures were taken beginning 6 hours after the inoculation.

	Temperature before injection	Temperatures after injection					
	11 am. Dec. 15	5 pm. Dec. 15	7 am.	8 am.	9 am.	10 am.	1 pm. Dec. 16
Calf No. III	101.3	102.1	102.8	102.8	103.1	103.0	101.8

The animal had a non-tuberculous history, coming from a tuberculin-tested mother and fed milk from a tuberculin tested herd.

May 10, 1913, the calf was subjected to the tuberculin test, using avian tuberculin. The temperatures are recorded in Table VII.

Generated on 2019-09-15 14:38 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Table VII.

	Temperatures before injection							Amount of tuberculin injected	Temperatures after injectio						
	8 am.	10 am.	12 m.	2 pm.	4 pm.	6 pm.	8 pm.	8 pm.	4 am.	6 am.	8 am.	10 am.	12 m.	2 pm.	4 pm.
Calf No. III	101.3	101.7	101.8	102.1	101.6	101.7	101.6	3 cc.	100.8	101.3	103.2	103.0	103.3	102.9	102.5

The absence of a decided reaction was scarcely to be expected as it was thought the organism should prove even more pathogenic for the bovine species after having once been passed through one animal of that species.

When killed and autopsied, no lesions indicating infection were found.

Calf No. IV.

This calf was fed, in the same manner as the others, the macerated organs of a tuberculous hen received from Livingston Co., Mich., for examination at this laboratory. The calf presented a similar history to that of the others and was handled in much the same manner.

April 18, 1913, the calf was tested with ordinary tuberculin. The results are given in Table VIII:

Table VIII.

	Temperatures before injection						Time of injection	Amount of tuberculin injected	Temperatures after injection						
	8 am.	10 am.	12 m.	2 pm.	4 pm.	6 pm.	8 pm.		6 am.	8 am.	10 am.	12 m.	2 pm.	4 pm.	6 pm.
Calf No. IV	102.1	101.8	101.8	101.9	103.0	102.4	102.4	3 cc.	103.3	103.9	105.0	105.2	104.3	102.8	102.8

In the case of calf No. I, we secured no reaction to bovine tuberculin; true, it was a different lot of tuberculin and the test was administered under different conditions, but these two cases are evidence of the contradictory nature of such experiments and show the danger that exists in drawing too positive conclusions therefrom.

May 5, 1913, the animal was tested again, using avian tuberculin. Table IX gives the temperatures secured during the reaction:

Table IX.

	Temperature before injection						Time of injection	Amount of tuberculin injected	Temperatures after injection						
	8 am.	10 am.	12 m.	2 pm.	4 pm.	6 pm.	8 pm.		4 am.	6 am.	8 am.	10 am.	12 m.	2 pm.	4 pm.
Calf No. IV	101.7	102.6	102.2	102.5	102.2	102.0	101.5	3 c. c.	106.2	104.0	103.1	102.3	101.4	102.5	103.4

It will be noticed that only fifteen days elapsed between this and the test with ordinary tuberculin, which, with the case of calf No. I, supports the view that avian tuberculin will not immunize an animal against the anaphylactic action of ordinary tuberculin or vice versa. The response to this test with ordinary tuberculin, weakens the sup-

Generated on 2019-09-15 14:38 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

position advanced previously that a difference exists in the avian and ordinary tuberculins.

This calf was killed and examined post mortem with the following findings:

Liver presented many yellowish, white spots $^1/_8$ cm in diameter, smears from which showed presence of tubercle bacilli. Hepatic lymph glands were normal however. Mesenteric lymph nodes opposite union of jejunum and ileum enlarged and tubercular. No lesions were found in the intestines.

In view of the question of the relationship of the avian tubercle bacterium to the causative factor in Johne's disease, it was of considerable interest to note that in the calves fed tubercular material all developed a severe diarrhea four to five days after ingestion. This condition, in the case of calf No. 4 lasted nearly five weeks. In spite of the observations of Twort and Ingram (9), that in Johne's disease no reactions result from the use of tuberculin-like preparations made from such acid fast bacilli as the timothy grass bacillus and the avian tubercle bacillus, tuberculin made from the avian tubercle bacillus has been used to a considerable extent for diagnostic purposes in Johne's disease (15). We have produced a tuberculous condition in calves by feeding tubercular material from chickens, and this pathologic condition is also sufficient to give rise to a reaction to the injection of avian tuberculin. Avian tuberculin cannot, therefore, be considered a specific diagnostic agent for either of these two diseases. Giltner (16) has called attention to the possibility of using avian tuberculin in the differentiation of Johne's disease and avian tuberculosis in bovines.

Agglutination work.

There is a great need of some means by which one can detect the presence of tuberculosis in the living bird. This need is of perhaps as great importance from an experimental as from a practical point of view.

Ward (10) attempted to apply the tuberculin test in diagnosing the disease in birds, using both ordinary and avian tuberculin. He was unable to secure satisfactory results with either kind of tuberculin. Giltner (11) made similar tests with Government (B. A. I.) tuberculin on fourteen normal and ten tubercular birds. The results obtained proved unsatisfactory and indicate that the tuberculin test is not applicable in avian tuberculosis. We attempted the use of avian tuberculin in an ophthalmic test without results.

The work of Arloing and Courmont (12) and of Wigham (13) suggested to the writer that the agglutination phenomenon might prove successful in diagnosing this disease in the living bird.

Landis (14) in his work with the agglutination test in human tuberculosis found it to give unreliable results when serum and other body fluids were used. In no case did he get an agglutination in dilutions above 1 : 50. Wigham using the test on tuberculous monkeys, with goat serum as a control, found no titre of diagnostic value. Arloing and Courmont used a suspension of the tubercle bacilli grown in glycerin broth and found an agglutination titre as high as 1 : 20 in human tubercular patients.

In our work the blood was drawn from the vein of the wing, allowed to clot and the serum separated by centrifugalization. The suspension of tubercle bacilli used in the tests reported was made by growing the organism on potato slants until sufficient growth was obtained when it was removed and dried. The dried tubercle bacilli were then ground in a mortar to a fine powder and an 0.85 % NaCl solution containing 0.5 %

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 14:38 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

of phenol slowly added, drop by drop until a thick paste was secured and the carbol-salt solution added more rapidly. The suspension was made of the right density and let stand twenty-four hours in a cylindrical container to allow all thickly clumped masses to gravitate to the bottom. The supernatant fluid was then poured off and shaken in a shaking machine for three hours, before using. The suspension thus obtained was not as satisfactory as was wished and various other methods have been tried in our efforts to secure a satisfactory one, with no better results.

Only a few tests have been made as yet for want of better methods but those made give somewhat encouraging results.

Table X.

No. of bird	Dilution				Autopsy findings
	1:10	1:20	1:50	1:100	
9	#		#	+	Diseased
16	+	+	0	0	Normal
21	+	0			„
30	+	—	0	0	„
24	#	+	—	0	„
42	#	#	+	—	Diseased
84	#	#	+	+	„
52	#	+	+	+	„
9 (retest)	#	#	#	#	„
58	#	+	+	+	Normal
55	#	#	#	+	Diseased
69	#	+	—	0	Normal
60	#	—	0	0	„
71	+	+	0	0	„

= Complete agglutination. + = Nearly complete agglutination. — = Partial agglutination. 0 = No agglutination.

An extremely limited number of birds has been tested, and no positive conclusions can be drawn regarding the reliability of this means of diagnosis until a great many tests have been made on both normal and tubercular birds. There was only one normal bird (No. 58) that showed any agglutination whatever in dilutions of 1 : 100 while all the diseased birds did. Birds Nos. 16, 21, 30, and 25 were secured from the college plant as a control test on the suspicious birds. Birds Nos. 58, 69, 60 and 71 were secured from the college plant and fed bran mash containing macerated diseased organs from a tubercular hen. The presence of high agglutination titre in the case of No. 58 may be accounted for by the supposition that slight infection had been produced by the ingested organisms without the presentation of macroscopical lesions. Birds Nos. 52 and 55 were normal birds which had been associated in an uncleaned pen with hen No. 9, of the rat cohabitation experiments, for nearly four months.

This work is being continued and work with precipitins has been started but involves problems of technic which we have not been able to solve successfully as yet.

Summary.

Our results with the new media suggest their use as means of determining cultural differentiation but not enough work has been done to draw any positive conclusions as to their real value as such.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 14:38 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Generated on 2019-09-15 14:38 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Digitized by Google

Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

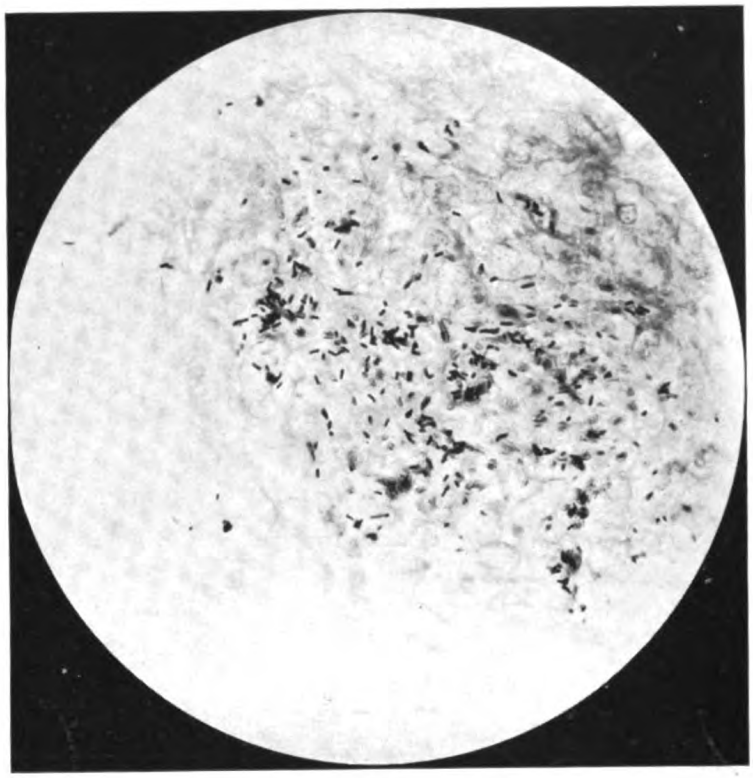


Fig. 1.

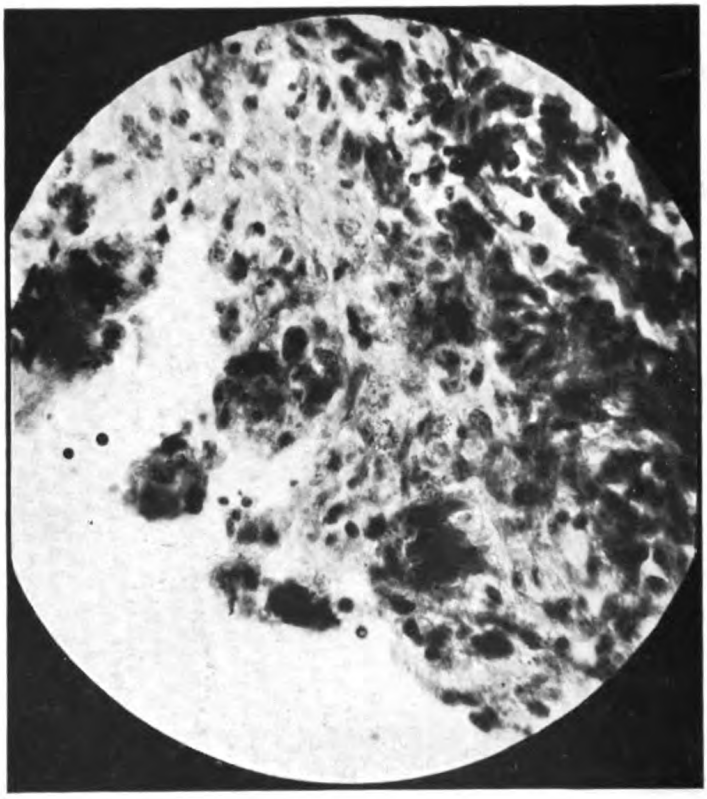


Fig. 3.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 14:38 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

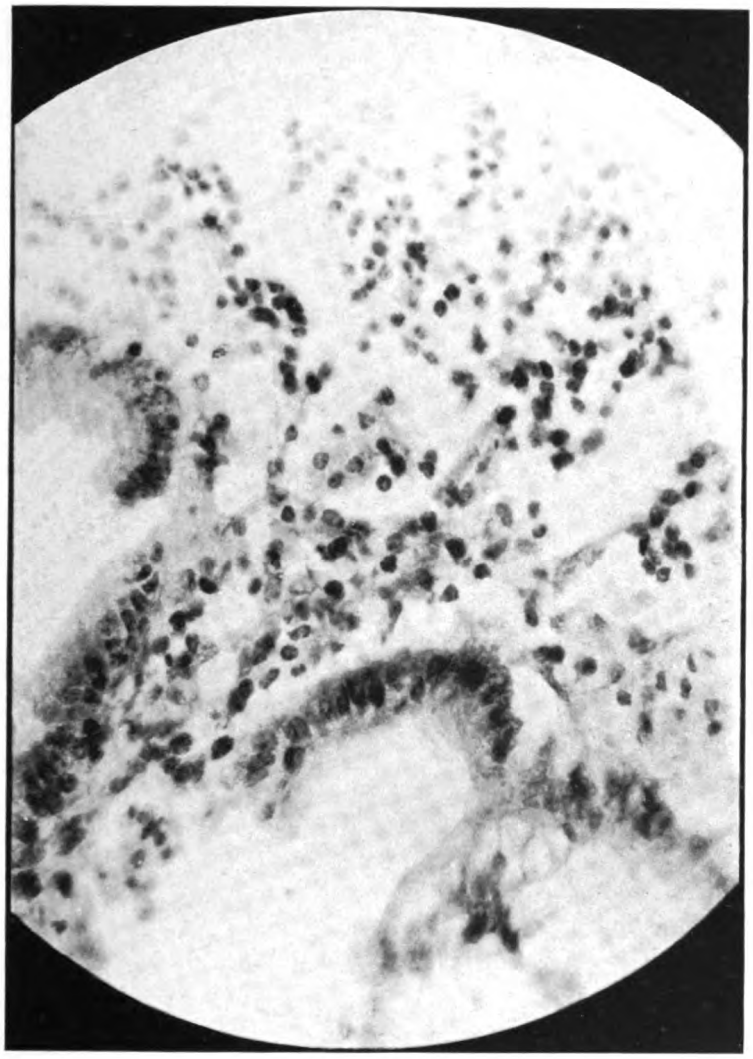


Fig. 2.

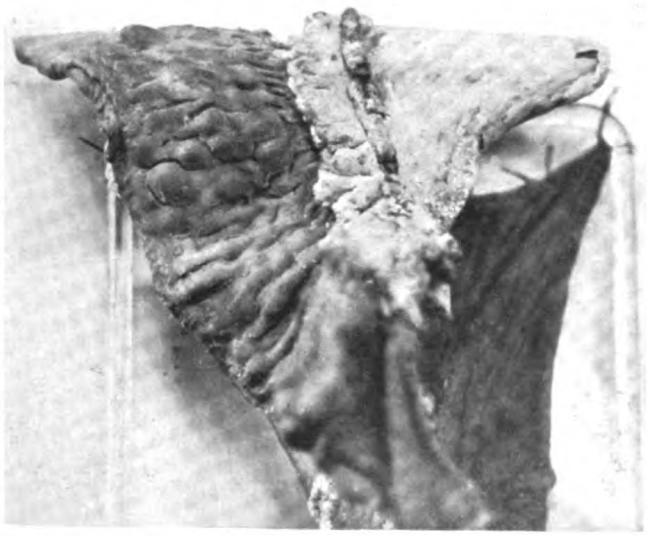


Fig. 4.

r in Jena.

Digitized by Google

Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-15 14:38 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Generated on 2019-09-15 14:38 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Digitized by Google

Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

We have been unable to infect white rats under conditions closely simulating cohabitation with diseased birds, our attempts to infect limited numbers of guinea pigs and rabbits have all resulted negatively, except with case of one rabbit, which in a small way bears out the findings of others that these animals are not as susceptible to the avian as to the other types of the tubercle bacillus.

The data and results obtained with calves is perhaps the most valuable part of our work as it proves that the avian bacillus can produce a condition of tuberculosis in bovines. The data afforded by the tuberculin tests is of great interest and while the cases have been limited in number for want of more material, the results are nevertheless suggestive.

The possibility of applying the agglutination, complement fixation, and precipitin tests is indeed encouraging. While it would be impractical to test whole flocks of birds whose value is low, it would be of great benefit to breeders of high-grade stock. However, the value of such tests can be determined only by their use on a large number of birds.

Literature.

1) Moore, Pathology of Infectious Diseases of Animals. Ithaca, N. Y. 1908.
2) Edwards, Ontario Agr. Coll. Bull. No. 193.
3) Straus and Wurtz, Cong. pour l'étude de tubercul. 1888.
4) de Jong, Annal. de l'Instit. Pasteur. T. 24. 1910.
5) Mohler, Rept. B.A.I. 24th Ann. Rep.
6) Hastings and Halpin, Wis. Res. Bull. No. 28.
7) Moore, Journ. Med. Res. Vol. 9.
8) Koch u. Rabinowitsch, Virchows Arch. path. Anat. u. Physiol. Bd. 190.
9) Twort and Ingram, Proc. Roy. Soc. Ser. B. Vol. 84. 1912. No. B. 575. p. 517—542.
10) Ward, Calif. Expt. Stat. Bull. No. 161.
11) Giltner, Ann. Rep't. Mich. Exp. Stat. 1911.
12) Arloing and Courmont, Gaz. d. Hopit. 1900. p. 1467.
13) Wigham, Journ. Hyg. Vol. 6. p. 212.
14) Landis, Journ. Med. Res. Vol. 18. p. 19.
15) Moore, Bovine Tuberculosis. Ithaca, N. Y. 1913.
16) Giltner, Report of Bacteriologist, Mich. B'd. of Agr. 1912. p. 181.

Description of Plates.

Fig. 1. Photomicrograph of section of lung tissue from hen No. 4 showing great numbers of tubercle bacilli. Zenker's. Stained with carbol-fuchsin, counter-stained with methylene blue 1000 ×.

Fig. 2. Photomicrograph of intestinal lesion in which no tubercle bacilli could be demonstrated on microscopical examination. The specimen shows the presence of numerous polymorphnuclear leucocytes. Zenker's. Stained with carbol-fuchsin, counter-stained with methylene blue 1000 ×.

Fig. 3. Photomicrograph of histological preparation from diseased mesenteric lymph gland of calf No. I showing great numbers of tubercle bacilli. Zenker's. Stained with carbol-fuchsin and counter-stained with methylene blue 600 ×.

Fig. 4. Photograph of wall of intestine showing tubercle like lesions. Fig. 2 is a photomicrograph of histological preparation of one of these lesions.

All photographs by Miss Zae Northrup.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 14:38 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Nachdruck verboten.

On a peculiar Form of Pasteurella in an Indian Elephant.

[From the Raymond Research Laboratory, Calcutta.]

By **Satyendra Nath Mitra**, G. B. V. C.,
Lecturer on Pathology, Bengal Veterinary College.

With 1 Figure.

The occurrence of Pasteurellosis among Indian Elephants is no new addition to our Veterinary Medicine. It has been studied in Burma by Lt. Col. Evans. The object of this paper is to place on record a rather peculiar case which occurred in an elephant in Calcutta. The subject was one of the best specimens of its tribe and belonged to a Circus. Information reached this Laboratory one evening that the Elephant in question had died very suddenly the previous night. The animal had been only ailing for about 36 hours. The Manager suspected that the animal had been poisoned. We were requested to conduct an autopsy so as to ascertain the cause of death. Immediately on our arrival there, the post mortem examination was held which was as follows:



Fig. A. Growth in agar glant. 72 hours old.

The carcass was well nourished and slightly inflated with gas. An oedematous swelling was noticed at the throat which on section gave exit to a yellow gelatinous fluid. The muscular tissue was congested and the blood thick and dark coloured. There was sero-sanguinolent exudate in the thoracic cavity. The heart was slightly hypertrophied, congested marked with ecchymosis and showed traces of granular fatty degenerations. The Endocardium was marked with petechiae. The cavities were filled with semi-clotted dark blood. The lungs were highly inflamed and contained several disseminated oedematous zones with hyperplasia of interlobular connective tissues. The peritoneal cavity contained some serosanious exudate. The liver was hypertrophied, engorged with blood and bile and resistant to section. The spleen was enlarged and there were patches of haemorrhagic extra-vasation under the capsule; the parenchyma was very soft and pulpy. The kidneys were congested. The mesenteric ganglia were hypertrophied, soft and red on section. The stomach was inflamed and contained some semi-liquid ingesta. The mucous membrane of the small intestine was highly inflamed, thickened with exudation, marked with punctiform haemorrhages and occasional transverse stripes. The lesions of the large intestines were more or less identical to those of the small ones. The pleura and peritoneum were marked with petechiae.

An examination of blood from different organs and exudation of the throat showed some diplo-coccoid bacteria with large numbers of extraneous ones. Cultures were made from blood of different organs and 2 rabbits were inoculated endermically. The viscera were forwarded to the chemical examiner for analysis.

The first culture was an apparent failure from secondary infections but in subcultures, the bacterium was isolated in a pure state (Fig. A). The size of the microorganism was very small viz: .5 μ in length. Though it did not show any typical bipolar staining the character of the growth in different media resembled like that of Fowl Cholera. This growth when inoculated into a pigeon caused its death in 8 hours. The symptoms of the bird resembled those of Fowl Cholera. The blood of the heart

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 14:38 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

swarmed with coccoid bacteria. The same sort of growth was obtained from the blood. Both the rabbits died within 18 to 24 hours after inoculation. The post mortem lesions were quite identical with those of Haemorrhagic septicaemia and a large number of coccoid bacteria was detected in the blood of the heart. The cultures from these rodents were also positive. In the mean time the chemical examiner reported that no poison had been detected.

Remarks. The micro-organism which has been isolated from the Elephant is found to have cultural character and pathogenic property like those of Fowl Cholera, though it did not show any bipolar staining.

Nachdruck verboten.

Piroplasmosis equina.

Parasitentypen.

[Aus dem militär-tierärztlich bakteriologischen Laboratorium zu Rom.]

Von Dr. **Matteo Carpano.**

Mit 3 Tafeln und 6 Textkurven.

Bei Untersuchung zahlreicher Blutpräparate von an Piroplasmosis leidenden Pferden, die ich direkt entnahm oder die mir aus fast sämtlichen Regionen Italiens zugingen, habe ich seit langer Zeit feststellen können, daß bei uns bei dieser Erkrankung der Pferdefamilie 2 Parasitenformen vorkommen, die namentlich durch ihre besonderen morphologischen Charaktere 2 gut distinkten Typen entsprechen.

Nach der Entdeckung Guglielmis, der uns bereits 1899 den Erreger seiner Malaria equina kennen lehrte, beschreibt Laveran im Jahre 1901 an Präparaten, die er von Theiler aus Südafrika erhalten hatte, denselben Parasiten unter dem Namen Piroplasma equi.

Im Jahre 1903 hält Guglielmi in einer zweiten Arbeit „Un altro caso di malaria del cavallo“ die Bezeichnung Piroplasma, die Laveran diesem endoglobulären Parasiten in Analogie zu dem des Rindes und Hundes beigelegt, nicht für passend, da das birnförmige Aussehen ein nebensächlicher und selten anzutreffender Charakter sei.

Koch konstatiert im Jahre 1905 in Rhodesien 2 endoglobuläre Parasitenformen bei der Pferdefamilie, deren eine dem Typus Parvum der Rinder nahekommt, mit der Charakteristik der Teilung in vier kreuzförmig angeordnete Elemente (Laverans Piroplasma equi), die andere dem gewöhnlichen Typus Bigeminum.

Im Jahre 1908 beschreiben Bielitzer und Marzinowsky in einer in Rußland veröffentlichten Mitteilung den Parasiten in den Pferden jener Gegend mit den dem Bigeminum zukommenden Eigenschaften.

França kommt 1909 auf die Ausführungen Guglielmis über die diesem Blutschmarotzer beigelegte unpassende Bezeichnung zurück und erklärt, daß das Laveransche Piroplasma equi nicht als ein Piroplasma betrachtet werden dürfe. Er bildet daher die neue Gattung Nuttallia (zum Ersatz der Gattung Piroplasma) und stellt die Art Nuttallia equi auf.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 14:38 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Derselbe Autor berücksichtigt nicht im geringsten den Typus Bigeminum, von dem besonders bei Russi, Koch, Bielitzer und Marzinowsky in den betreffenden Mitteilungen klar die Rede ist.

Im gleichen Jahre veröffentlichen Marzinowsky und dann nochmals Marzinowsky und Bielitzer zwei Mitteilungen über die Kultur und über die Uebertragung des Piroplasma bei den Pferden. Aus diesen Arbeiten ist zu ersehen, daß der in Rußland herrschende Piroplasmosistypus der Bigeminum-Typus ist, der morphologisch von dem von Laveran beschriebenen Haematozoon verschieden ist.

Im Jahre 1910 veröffentlicht Nuttall eine vorläufige Mitteilung, durch die er in den an Gallenfieber leidenden Pferden 2 distinkte Parasitenarten nachweist.

1912 heben Nuttall und Strickland unter Vergleichung des Parasitentypus der Piroplasmosis equina Südafrikas mit dem in Rußland herrschenden deren Hauptunterschiede hervor; und während sie für den ersten Typus die von França eingeführte Bezeichnung Nuttallia equi akzeptieren, nennen sie den zweiten Piroplasma (Babesia) caballi, ein Name, der ihm bereits von Nuttall im Jahre 1910 gegeben worden war.

Die englischen Autoren gehen über die bloße morphologische Differenzierung hinaus: durch Blut mit Piroplasma caballi, das sie von Marzinowsky erhielten, gelingt es ihnen, die Krankheit auf bereits (durch eine durchgemachte Infektion) gegen Nuttallia equi immunisierte Pferde zu übertragen und umgekehrt.

In Italien war bisher keinerlei Unterscheidung der vorkommenden Typen gemacht worden; man spricht im allgemeinen von kleinen, mittleren und großen Formen, von rundlichen und birnförmigen Elementen, von typischen und polymorphen Formen. Diese Unbestimmtheit ist zweifellos dadurch erzeugt worden, daß bei uns die beiden Parasitentypen in derselben Endemie und zuweilen, als eine echte Mischinfektion, in demselben Individuum angetroffen werden können.

Zahlreich sind jedoch die Piroplasmosisherde, wo nur eine Parasitenart beobachtet wird. Eben auf diese Herde habe ich ganz besonders meine Aufmerksamkeit gerichtet und aus ihnen den größten Teil des nötigen Materials für die vergleichende Untersuchung der beiden Typen entnommen. In der vorliegenden Mitteilung lege ich kurz meine Beobachtungen dar.

Beschreibung der beiden Parasitentypen.

Vom Anfang meiner Untersuchungen an habe ich, namentlich auf Grund der allgemeinen morphologischen Charaktere der fraglichen Parasiten, die beiden Piroplasmaformen in einen kleinen Typus oder Parvum und einen großen Typus oder Bigeminum unterschieden. Davon entspricht der erste der 1909 von França aufgestellten Art Nuttallia equi, der zweite der Art Babesia caballi nach der 1910 von Nuttall eingeführten Bezeichnung.

Kleiner Typus oder Parvum (Nuttallia equi).

(Taf. I, Fig. 1, 3, 5; Taf. II, Fig. 1—26.)

Dieses Piroplasma scheint nach den verschiedenen Mitteilungen, die in dieser Hinsicht gemacht wurden, der verbreitetste Typus auf der Erde zu sein. Die Mehrzahl der Beschreibungen, die über den Erreger der Piroplasmosis equina vorliegen, beziehen sich in der Tat auf ihn. In

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 14:38 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Italien sprechen Guglielmi, Russi, Baruchello und Mori, Pricolo, Stazzi, Perrucci, Lanfranchi usw., im Ausland Theiler, Laveran, Rickmann, Thiroux, Bowhill, Williams, Balfour etc. großenteils von diesen Formen.

Hauptcharakteristiken des Typus sind: Im allgemeinen nicht sehr große Dimensionen, einige morphologische Eigenschaften, die ihn der Gattung Theileria nahe rücken, fast spezieller Reproduktionsprozeß in vier kreuzartig angeordnete Elemente.

Morphologie. Ich beschreibe den fraglichen Parasiten, wie er sowohl in den frischen Präparaten als in den auf verschiedene Weise gefärbten Ausstrichen beobachtet wird.

Untersuchung im frischen Zustand. In den bei direkter Beleuchtung und auf 36° C erwärmtem Bänkchen beobachteten frischen Präparaten wird das Haemosporidium namentlich durch die Lichtbrechung seiner Kernmassen ohne große Schwierigkeit wahrgenommen.

Freilich erlauben ihre geringen Dimensionen kein detailliertes Studium. Verfolgt man jedoch ein parasitenhaltiges Blutkörperchen eine Zeitlang unter dem Mikroskopfeld, so sieht man deutlich, daß der Parasit langsam seine Form verändert und zuweilen Fortsätze oder Pseudopodien ausschickt, die nach einer gewissen Zeit wieder eingezogen werden.

Ebenso ist es möglich, der Spaltung der Kreuze in vier freie Elemente beizuwohnen, die sich verschiedenartig in dem roten Blutkörperchen anordnen; dagegen ist es unmöglich, die Bildung der Kreuze zu verfolgen, wahrscheinlich wegen der langen Zeit, die zu diesem Vorgang notwendig ist.

Die Bewegungen der Parasiten lassen sich am besten unterscheiden bei Benutzung der seitlichen Beleuchtung (Ultramikroskop), bei der die Konturen des Blutkörperchenschmarotzers am deutlichsten sind.

Gefärbte Präparate. Für die Färbung habe ich sämtliche gebräuchlichen Farblösungen verwendet. Die besten Resultate zum Nachweis der morphologischen Eigentümlichkeiten erhielt ich bei Benutzung von Romanowsky in leichter Modifikation, wobei ich intensiv bei 36° C färbte und dann bis zur Genüge entfärbte.

Meine mikroskopischen Beobachtungen sind nicht nur am kreisenden, aus den kleinen Gefäßen und dem Herzen entnommenen Blut, sondern auch an inneren Organen und verschiedenen Geweben, namentlich am Knochenmark, angestellt worden.

Die aufgefundenen Parasiten können in endoglobuläre und extraglobuläre unterschieden werden. Die verschiedenen Formen lassen sich in folgende Gruppen einteilen:

Körnchenformen. Sie bestehen aus einer dicken rundlichen Chromatinmasse von ca. 0,5—1 μ Durschmesser, die von einem leichten, jedoch nicht immer sichtbaren Protoplasmahof umgeben sind. Morphologisch erweisen sie sich identisch mit dem Anaplasma. Ihre Lage kann zentral sein, meist aber zeigen sie sich gegen die Ränder des roten Blutkörperchens verschoben. Im allgemeinen finden sie sich in Einzahl im Blutkörperchen, doch können sie auch die Zahl von 3—4 erreichen.

Ringformen. Variabel nach Größe von 1—2 μ, haben sie eine Gestalt, die von der runden zur eiförmigen gehen kann. Sie bestehen aus einer Protoplasmamasse und einem kleineren oder größeren Kern, der das Aussehen eines Granulum, einer kleinen Sichel oder eines vollständigen Ringes haben kann (Fig. 6).

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 14:38 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Dieser Kern kann einfach oder doppelt sein; in letzterem Falle können die beiden Massen tangent, volltändig getrennt oder durch einen Chromatinfaden verbunden sein. Der Ring hat zuweilen eine zentrale farblose oder in der Farbe des Blutkörperchens gehaltene Vakuole. Andere Male zeigt er einen geißelartigen Protoplasmaanhang (Fig. 5).

Von diesen Formen können wir in demselben Blutkörperchen 1—4 und bisweilen auch mehr auffinden. Die kleinen und mittelgroßen Ringchen gleichen den Parasiten von derselben Form der Gattung Theileria oder wie Guglielmi hervorgehoben hatte, den jungen Schizonten des Aestivoautumnalfiebers des Menschen.

Birnformen. Auch diese (Fig. 2, 3 u. 11) können verschiedene Dimensionen haben und mehr oder weniger angeschwollen sein. Die Konstitution ist gleich der der Ringe: Protoplasma und einfacher und bisweilen doppelter Chromatinkern. Andere Male ist in den kleinen Elementen der Kern stark entwickelt und nimmt den Parasiten fast vollständig ein.

Die Birnen können sich auch länglich und verdünnt zeigen: alsdann erscheinen sie wie einige Elemente des Piroplasma bacilliforme. Uebrigens finden die meisten Parasiten dieser morphologischen Gruppe ein genaues Gegenstück in einigen Formen der Theileria.

Bisweilen können wir in demselben Erythrocyten zwei birnförmige Elemente antreffen (Fig. 11); in diesem Falle aber haben sie keine große Aehnlichkeit mit den bigeminen Birnen, die wir in dem nachfolgenden Typus besser kennen lernen werden.

Geißeltragende oder amöboide Formen. Es sind Parasiten (Fig. 4 u. 5) mit unregelmäßigen Konturen und von verschiedener Größe, die 1, 2 und bisweilen auch 3 Geißeln oder Pseudopodien besitzen, die mehr oder weniger verdünnt sind und oft mit einer Anschwellung endigen, und aus Protoplasmasubstanz bestehen, in der häufig ein Chromatinfaden oder Chromatinkörner gesehen werden können.

In Reproduktion begriffene Formen. Diese sind gegeben durch Parasiten von verschiedenartigem Aussehen mit gleichförmigen, ausgebogten oder tief eingeschnittenen Rändern, die einen oder mehr Chromatinkerne in verschiedenen Stadien der Teilung enthalten.

Reproduktionsprozeß. Der Teilungsvorgang dieses Typus läßt sich wegen der Langsamkeit, mit der er erfolgt, und wegen der sehr reduzierten Dimensionen des Parasiten in den frischen Präparaten schwer verfolgen.

Bei Beobachtung jedoch von vielen gefärbten Präparaten sowohl des Blutes wie einiger innerer Organe und Gewebe (besonders der Milz und des Knochenmarks) bekommt man eine klare Vorstellung davon, wie sich das fragliche Bluttierchen reproduziert.

Indessen ist es notwendig, eine gewisse Unterscheidung zu machen zwischen der Reproduktion, die in diesen Organen und Geweben erfolgt, und der, die im zirkulierenden Blute eintritt: Obwohl der Prozeß derselbe ist, variiert er in der Zahl der Tochterelemente, die erhalten werden.

In den inneren Organen dringen die Parasiten aus dem freien Zustand in die roten Blutkörperchen ein (Fig. 1). Häufig ist es möglich, rote Blutkörperchen zu sehen, an deren Peripherie ein kleines Piroplasmaelement von nicht immer regelmäßiger Form bemerkt wird. In den Erythrocyten (Fig. 2) eingedrungen, wird das initielle Element größer und tritt, nachdem es die notwendige Entwickelung erreicht hat, seine

Generated on 2019-09-15 14:38 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Teilung an. Der verdickte Chromatinkern (Fig. 3) streckt sich und nimmt häufig die Gestalt eines Zwiebacks oder einer 8 an. Die zwei so entstandenen Massen trennen sich allmählich und bleiben bisweilen nur durch einen Chromatinfaden verbunden (Fig. 8). Nach Unterbrechung auch dieses Bandes werden die einzelnen Kerne frei; um sie sammelt sich indes das Protoplasma, das sich seinerseits in zwei Massen vereinigt (Fig. 9), die sich sukzessiv trennen und zwei distinkten Parasiten den Ursprung geben. Diese werden, nachdem sie eine Zeitlang adhärent gewesen, vollständig frei (Fig. 10). Die entstehenden Elemente können gleich groß oder das eine etwas kleiner als das andere sein; im letzteren Fall sieht das kleinere Element vor seiner Ablösung wie eine Art Sproß des größeren aus.

Andere Male nimmt nach der ersten Zweiteilung des Chromatinkernes der eine von ihnen größere Dimension an als der andere, streckt sich und teilt sich seinerseits (Fig. 12 und 13).

Das Piroplasma besitzt dann drei noch durch Chromatinfäden verbundene (Fig. 12—15) oder vollständig getrennte Kerne.

Auf diese erste Teilung des Kernsystems folgt die Teilung des Protoplasmas, das, sich um die Chromatinmassen zusammenziehend, die neuen parasitären Elemente abzeichnet (Fig. 13—15). Nach der vollständigen Teilung trennen sich diese und werden unabhängig (Fig. 16).

Dies ist das Teilungssystem, das hauptsächlich in den Ausstrichen der Milzpulpa und ganz besonders in denen des Knochenmarks beobachtet wird.

Die Reproduktion im zirkulierenden Blute kommt der oben beschriebenen sehr nahe; wie angedeutet, weicht sie davon nur durch die Zahl der gebildeten Elemente ab.

Das Eindringen in die roten Blutkörperchen und die erste Entwickelung des Parasiten erfolgt so, wie bereits angegeben worden ist. Die primäre Kernmasse teilt sich in zwei sekundäre Massen, die ihrerseits, sich zuerst zwiebackartig streckend, dann die Gestalt einer 8 annehmen und schließlich sich ebenfalls teilen, wodurch vier Kernelemente erhalten werden (Fig. 17).

Die zweite Teilung erfolgt nicht immer gleichzeitig in den beiden Kernmassen und kann zuweilen eintreten, noch bevor die initielle Teilung eine vollständige ist. Wir bekommen dann Formen, wie sie in Fig. 17, 18 und 19, die die verschiedenen Stadien summarisch zeigen, zum Teil dargestellt sind.

Nachdem so die Teilung des Kernes in vier mehr oder weniger regelmäßig an den Ecken eines Viereckes angeordnete Massen erfolgt ist, beginnt das Protoplasma des ganzen Parasiten sich ebenfalls zu teilen, indem es sich in großen Lappen oder dicken Sprossen um die Tochterkerne anordnet (Fig. 18—19). Diese Lappen, die am Anfange kaum angedeutet sind, werden sukzessiv noch ausgeprägter und geben schließlich dem Parasiten die Gestalt eines vierblätterigen Kleeblattes (Fig. 19). Durch Vertiefung der Einschnitte gewinnt das Bluttierchen das Aussehen des charakteristischen Maltakreuzes (Fig. 20). Es ist dann gebildet durch 4 Elemente von mehr oder weniger lanzenförmiger Gestalt, bestehend aus einer gegen die Peripherie liegenden Chromatinkernmasse und einem protoplasmatischen Teil, der sich gegen das Zentrum hin, wo die 4 Parasiten noch untereinander verbunden bleiben, verjüngt (Fig. 20). Bei der vollständigen Isolierung derselben verschiebt sich das Protoplasma, während die relativen Kerne in ihrer ursprünglichen

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 14:38 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Stellung verharren, nach außen an die Peripherie, so daß es den Eindruck macht, als ob die einzelnen Parasiten sich um ca. 180° um sich selbst gedreht hätten (Fig. 21).

Nicht selten nimmt einer der Tochterparasiten größere Proportionen an als die übrigen 2 oder 3, die alsdann wie Sprossenbildungen des ersteren erscheinen (Fig. 14).

Die 4 Tochterelemente ordnen sich bei ihrer vollständigen Trennung verschiedenartig in den roten Blutkörperchen an (Fig. 22). Wenn diese zerfallen, treten die Piroplasmen in Freiheit, um in andere Erythrocyten einzudringen (Fig. 25, 26).

Zuweilen können im selben roten Blutkörperchen mehr als 4 Parasiten angetroffen werden (Fig. 24). Sie können hervorgegangen sein entweder aus derselben primären Masse, die ihre Reproduktion nicht auf 4 Elemente beschränkt, sondern ihren Kern und späterhin das Protoplasma in eine größere Anzahl von Individuen weiterteilt (Fig. 23), oder aus zwei ursprünglichen Parasiten, die, in dasselbe rote Blutkörperchen eingedrungen, sich fast gleichzeitig reproduzieren und zur Bildung einer verschiedenen Anzahl von Tochterpiroplasmen in demselben Erythrocyten führen.

Blutveränderungen. Die Blutveränderungen bei den Nuttallia-Infektionen erweisen sich im allgemeinen als bedeutend schwerer als die durch den Typus Bigeminum bedingten.

In den ganz schweren Fällen, in denen der Tod nicht rasch eintritt, wird das Blut makroskopisch verwaschen wie Serum, während die Zahl der roten Blutkörperchen auf einen äußerst niedrigen Betrag heruntergehen kann. In einem argentinischen Pferde der Garnison zu Rom, das bei der mikroskopischen Untersuchung ca. 80 Proz. der roten Blutkörperchen mit Parasiten infiziert gezeigt hatte, wurden am 7. Krankheitstage nur noch 1 500 000 Erythrocyten im Kubikmillimeter gezählt.

Im allgemeinen sind die Veränderungen dieselben wie bei den tiefen Anämieen. Neben der Verminderung der roten Blutkörperchen bekommt man Poikilocytose, Anisocytose und, bei vorgerückter Krankheit, Polychromasie, basophile Granulationen besonders der Makrocyten, gekernte rote Blutkörperchen usw.

Fast stets ist im Blute der an dieser Piroplasmosisform erkrankten Pferde die große Leichtigkeit zu verzeichnen, mit der die roten Blutkörperchen sich geldrollenartig anordnen, so daß sie in den Fällen von einer gewissen Schwere die Herstellung von guten Ausstrichen für die mikroskopischen Beobachtungen zu einer sehr schwierigen gestalten (Taf. I, Fig. 3).

Das Verhältnis der roten und weißen Blutkörperchen wird ebenfalls stark alteriert, sei es durch die Verminderung der ersteren wie durch die Vermehrung der letzteren.

In den Blutpräparaten von Tieren mit diesem Parasitentypus werden auch ziemlich häufig phagocytäre Erscheinungen durch Makrophagen wahrgenommen, die nicht nur die freien Parasiten, sondern auch Reste von roten Blutkörperchen und bisweilen ganze parasitenführende Erythrocyten einballen.

Großer Typus oder Bigeminum (Babesia caballi).

(Taf. I, Fig. 2, 4, 6. Taf. II u. III, Fig. 27—62.)

Dieses Piroplasma ist weniger häufig und weniger verbreitet als der Typus Parvum. In der Tat sprechen recht wenig Autoren von ihm.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 14:38 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Der erste, der auf ihn hinwies, ist Russi, der im Jahre 1901 auf dem V. Kongreß der Federazione Veterinaria Italiana mitteilte, daß er unter den zahlreichen in Apulien beobachteten Piroplasmosisfällen 3mal den Parasiten in Birnenform, und zwar doppelt in demselben Blutkörperchen und mit den zugespitzten Enden verbunden hatte beobachten können.

Wie wir gesehen haben, hatte Koch 1905 in Rhodesien beobachtet, daß neben dem zur Teilung in 4 Elemente in Kreuzform befähigten Piroplasmatypus die gewöhnliche bigemine Form vorkam.

Von derselben Form spricht Marzinowsky, der sie 1909 an den Pferden Rußlands studierte.

Dieses Piroplasma scheint in Rußland und Transkaukasien äußerst verbreitet zu sein (Beilitzer und Marzinowsky, Dschun, Kowsky, Luhs). Es kommt in Rhodesien vor (Koch). In Südafrika dürfte, obwohl der vorherrschende Typus die Nuttallia ist, der andere, der bigemine, nicht fehlen, soweit ich wenigstens aus der Beschreibung und den Abbildungen ersehen kann, die Bowhill in einer Arbeit über den Gegenstand gibt.

In der Kolonie Erythraea scheint es mir die einzige vorkommende Form zu sein. In der Tat habe ich bei den zahlreichen Blutuntersuchungen aus der Pferdefamilie, die ich im Laufe von verschiedenen Jahren ausführte, nur einen Fall eben von Babesia caballi angetroffen.

In Italien weist, nach Russi, Pricolo auf diese großen, birnenartigen, mit den spitzen Enden verbundenen Formen hin, die die Morphologie des Bigeminum wiederholen. Dieser Typus ist, wie gesagt, bei uns ziemlich weit verbreitet, jedoch nicht so wie die Nuttallia.

Der fragliche Parasit ist charakterisiert durch die konstante Anwesenheit von großen birnenartigen, an dem einen Ende stark verjüngten und zu Paaren vereinigten Formen in demselben roten Blutkörperchen. Morphologisch kommt er der Babesia bovis und ganz besonders der Babesia canis sehr nahe; zwischen diesen hält er der Größe nach die Mitte und vermehrt sich ungefähr in derselben Weise.

Morphologie. Untersuchung im frischen Zustande. Bei Untersuchung des parasitenhaltigen Blutes an abgekitteten Präparaten auf einem Bänkchen, das auf 36° erwärmt werden kann, sind die Hämoprotozoen namentlich durch ihre großen Dimensionen leicht wahrnehmbar.

Sie sind mit äußerst langsamen, nur nach verschiedenen Stunden der Beobachtung erkennbaren Bewegungen mit sukzessiven Formveränderungen ausgestattet. Besonders die isolierten Formen sind es, die sich am meisten verschieben und ihre Gestalt verändern. Die Doppelbirnen besitzen nicht immer erkennbare Bewegungen.

Bei seitlicher Beleuchtung (auf dunklem Grunde) nehmen die Parasiten ein ganz besonderes Aussehen an: Die Kernmassen erweisen sich stark belichtet, während die Kontur des Piroplasma sich kaum von dem Grund des roten Blutkörperchens unterscheiden läßt.

Gefärbte Präparate. Wie bei dem anderen Piroplasmatypus sind die besten Resultate in bezug auf Färbung bei Verwendung des Romanowskyschen Verfahrens erhalten worden.

Die Mehrzahl der Figuren auf Taf. II und III sind eben von nach dieser Methode gefärbten Präparaten gewonnen worden.

Die bei diesem Typus anzutreffenden Parasitenformen sind etwas verschieden, je nachdem sie aus einigen Geweben und inneren Organen

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 14:38 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

(Knochenmark, Milz, Leber etc.) oder aus dem zirkulierenden Blute stammen. Die ersten haben besonders eine runde oder rundliche Gestalt, bei den zweiten überwiegen die entschieden birnenartigen Formen.

Ich beschreibe auch hier summarisch die Haupterscheinungen, unter denen sich dieser Parasit in den gefärbten Präparaten zeigt.

Runde und rundliche Formen. Diese sind äußerst zahlreich in den inneren Organen, und zwar ganz besonders in der Milz und im Knochenmark. Bei schwerer Infektion sind sie mit einer gewissen Häufigkeit auch im kreisenden Blute anzutreffen.

Sie besitzen etwas variable Dimensionen und sind größer als die betreffenden Formen der Nuttallia. Im allgemeinen haben sie einen Durchmesser von 1,5—3 μ. Sie bestehen aus einer Protoplasmamasse, die sich nach Romanowsky himmelblau färbt. Das genannte Protoplasma strebt sich gegen die Peripherie des Parasiten zu verdichten; infolgedessen zeigt sich dieser fast immer heller gegen das Zentrum und nimmt zuweilen das Aussehen eines wahren Ringes an (Fig. 28 und 38).

Das Protoplasma hat gleichmäßige Struktur und zeigt nicht selten Vakuolen.

Das Kernsystem ist an den gut gefärbten Präparaten gebildet durch eine nicht immer gut definierte, sich hellrot oder einfach rosa färbende Masse, in der eine Art von sich dunkelrot färbender Chromatinverdichtung bemerkt wird, die das echte Karyosom zu sein scheint. Form und Größe des Kernsystems sind sehr variabel. Meist hat es rundliche Form oder die eines Kommas, eines Halbmondes, eines Stäbchens, einer Hantel, eines vollständigen Ringes. Die Dimensionen drehen sich im allgemeinen um 0,5 μ. Der Kern kann einfach oder doppelt sein. Ist er doppelt, dann können die beiden Massen durch 1 oder 2 Chromatinfäden verbunden oder vollständig getrennt sein.

Der Teilungsvorgang des Kernsystems nimmt bei einigen Parasiten das Aussehen einer echten Mitose an (Taf. II, Fig. 29).

Die runden Formen werden großenteils in den roten Blutkörperchen angetroffen, während nur wenige frei beobachtet werden. Die Zahl dieser endoglobulären Parasiten kann 1—4 betragen (Taf. II und III, Fig. 28—35). Kaum läßt sich bei den Pferden eine größere Menge zählen, wie sie leicht bei der Babesia canis zu beobachten ist.

Diese multiplen endoglobulären Formen sind nicht so sehr auf ein Eindringen in Mehrzahl zurückzuführen, vielmehr sind sie das Produkt wiederholter Teilungsprozesse.

Die freien Parasiten verlieren im allgemeinen die regelmäßige Kontur und nehmen ein amöboides Aussehen an.

Birnformen. Es sind dies die im kreisenden Blute vorherrschenden Formen, während sie in den inneren Organen äußerst spärlich sind.

Sie können in einigen roten Blutkörperchen isoliert angetroffen werden (Taf. III, Fig. 39, 42 und 43) oder zu verschiedenartig angeordneten Paaren vereinigt, und zwar besonders mit den verdünnten Enden zusammenhängend (Taf. III, Fig. 52—55) oder auch in größerer Anzahl als 2, bis zu 4 Elementen (Taf. III, Fig. 58, 59), die verschiedenartig in demselben Erythrocyten kombiniert sind.

Die isolierten Birnen haben häufig eine nicht sehr regelmäßige Form und streben zuweilen oval zu werden. Im allgemeinen sind sie von großen Dimensionen und können die entgegengesetzten Ränder der roten Blutkörperchen, von denen sie bewirtet werden, erreichen (ca.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 14:38 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

6 μ Länge). Sie bestehen aus einer häufig vakuolisierten Protoplasmamasse und einem verschiedenartig zusammengesetzten und angeordneten Kernsystem.

Die bigeminen Birnen sind fast stets mit den zugespitzten Enden verbunden. Auch sie haben große Dimensionen und können mit ihren Leibern das rote Blutkörperchen fast ganz ausfüllen.

Die Form erinnert vollkommen an die der Babesia bovis und ganz besonders der Babesia canis.

Sie können das gleiche Aussehen haben oder die eine ist dünner als die andere (Taf. III, Fig. 54), fast wie ein langes, leicht gekrümmtes Stäbchen. Dies beruht wahrscheinlich darauf, daß der Parasit sich uns mit der scharfen Seite darbietet.

Ihre Struktur ist verhältnismäßig konstant. Sie ist gegeben durch ein mit den Chromatinlösungen mehr oder weniger intensiv himmelblau färbbares Cytoplasma von nicht gleichmäßiger Struktur, das nach Zahl und Größe verschiedene Vakuolen aufweist.

Das Kernsystem besteht aus zwei mehr oder weniger großen Chromatinmassen von verschiedener Gestalt. Die eine von ihnen, intensiv dunkelrot gefärbt, liegt im allgemeinen an der inneren Wölbung des stumpfen Teiles der Birne; die andere gegen die Mitte oder im ersten Drittel des Parasiten auf der verdünnten Seite. Letztere färbt sich meist weniger intensiv und besteht aus einer diffusen, rosa gefärbten Kernsubstanz, in der Filamente und Granulationen (Chromosomen) in verschiedener Anordnung zu erkennen sind: In Eiform, Reifform, Herzform, lanzenartig, dreieckig, C-artig, 8-artig oder einfach fast geradlinig (Taf. III, namentlich in Fig. 52—56).

Diese zwei Kernsysteme sind häufig durch einen ganz dünnen, kaum sichtbaren Chromatinfaden verbunden, auf dessen Verlauf zuweilen Verdickungen, dicke ebenso viel kleine Kerne vortäuschende Chromatinkörner bemerkt werden (Taf. III, Fig. 55). In anderen Parasiten zeigt sich der binukleäre Faden unterbrochen und es werden nur noch Ueberreste wahrgenommen; in diesem Falle scheint sich die Substanz des Fadens selbst kontrahiert und in die beiden Kerne zurückgezogen zu haben. Die mit den verdünnten Enden vereinten Birnen können sich nach einer gewissen Zeit trennen und anders in dem Erythrocyten anordnen (Taf. III, Fig. 56).

Außer den bigeminen Birnen treffen wir in den an Parasiten reichen Präparaten mit einer gewissen Häufigkeit rote Blutkörperchen an, die vier birnförmige Elemente enthalten, die mit dem verdünnten Ende sämtlich gegen denselben Punkt gewendet sind (Taf. III, Fig. 59) oder zu bigeminen Paaren in verschiedenen Richtungen angeordnet sind (Taf. III, Fig. 58). Sie füllen alsdann das rote Blutkörperchen fast vollständig aus. Ihre Struktur ist identisch mit der bereits beschriebenen, während die Dimensionen im allgemeinen etwas kleiner sind.

Die birnförmigen Elemente, die frei im Plasma angetroffen werden, rühren von den intraglobulären Formen her und besitzen die nämliche Morphologie. Sie können isoliert aufgefunden werden, meist aber werden sie in Paaren, das eine etwas von dem anderen entfernt, beobachtet (Taf. III, Fig. 60—62), und zuweilen auch noch mit den verdünnten Enden verbunden.

Amöboide Formen. Beim bigeminen Typus der Piroplasmosis equina sind die amöboiden oder Geißelformen nicht sehr häufig, wie es oft namentlich in der Milz und im Knochenmark des an dem-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 14:38 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

selben Protozoon leidenden Hundes der Fall ist und auch, wenn schon weniger häufig, bei der Nuttalliosis vorkommt.

Jedenfalls haben die amöboiden Formen, die angetroffen werden, sowohl intraglobulär wie frei, ziemlich große Dimensionen und sehr unregelmäßige Struktur und Gestalt. Der Protoplasmaleib kann mehr oder weniger vakuolisiert sein und färbt sich unregelmäßig. Die von ihm ausgesandten Pseudopodien sind nie zahlreich (1, selten 2) und bestehen im allgemeinen aus Protoplasma, das oft einen Chromatinfaden enthält, der sich zuweilen zu einem Granulum an dem Ende der Pseudopodien selbst zusammenzieht (Taf. III, Fig. 40).

In Reproduktion begriffene Formen. Diese sind gegeben durch runde oder birnförmige Elemente, deren Kerne resp. Protoplasmen sich in den verschiedenen Stadien der Reproduktion befinden, die wir im folgenden beschreiben wollen.

Reproduktionsprozeß. An den Präparaten im frischen Zustande ist es nicht möglich, den Reproduktionsprozeß dieses Typus zu verfolgen, da er sehr langsam erfolgt. Präparate, die viele Stunden lang unter dem Mikroskopfeld und auf erwärmbarem Bänkchen gehalten wurden, haben nur wenige auf die Reproduktion zurückführbare Veränderungen erkennen lassen.

An den gefärbten Präparaten dagegen, namentlich an den an Parasiten reichen, ist es möglich, fast sämtliche sukzessiven Phasen dieses Vorganges zu erkennen.

Dieser erfolgt auf zwei verschiedene Weisen: Bei der einen ist es eine echte einfache Spaltung und wird besonders in den inneren Organen (Milz, Knochenmark usw.) angetroffen; die andere, dem zirkulierenden Blute eigen, besteht in einem Prozeß, den man als Knospung bezeichnen kann.

Bei der ersten rundet sich das Piroplasma nach seinem Eindringen in das rote Blutkörperchen (Taf. II, Fig. 27) ab und vergrößert sich, während die Kernmasse sich in 2 Teile teilt (Taf. II, Fig. 28 und 29). Jetzt entsteht eine Teilung des Protoplasmas, das, den beiden Tochterkernen folgend, sich in der Mitte abschnürt (Taf. II, Fig. 30 und 31) und so zwei neue Parasiten erzeugt.

Andere Male dagegen bildet sich in dem Protoplasma selbst, und zwar in seinem zentralen Teil, eine längliche Vakuole (Taf. III, Fig. 32), die, sich vergrößernd, schließlich die parasitäre Masse in zwei teilt und zu 2 Piroplasmen führt, die in diesem Falle ein nierenförmiges Aussehen haben (Taf. III, Fig. 33).

Die zwei neuen Parasiten können sich in einigen seltenen Fällen, bevor das sie bewirtende rote Blutkörperchen zerfallen ist, ihrerseits weiterteilen und so zu 4 Parasiten in demselben Erythrocyten führen (Taf. III, Fig. 34 und 35). Auf diese sukzessive Teilung folgen jedoch nie weitere, wie es bei der Babesia canis vorkommt, bei der ich bis zu 24 Tochterparasiten, in demselben roten Blutkörperchen des Knochenmarks eingeschlossen, habe beobachten können.

Wenn diese jungen Elemente infolge der Zerstörung des Wirtblutkörperchens in Freiheit gesetzt werden (Taf. III, Fig. 36), so können sie in andere rote Blutkörperchen sowohl in denselben inneren Organen wie im kreisenden Blute eindringen.

Im Blutstrome ist, wie gesagt, der Vermehrungsprozeß verschieden von dem vorausgehenden. Nur in den schwersten Fällen mit reichlichem

Generated on 2019-09-15 14:38 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Parasitismus ist es möglich, auch hier die Teilung durch einfache Spaltung zu beobachten.

Der in das rote Blutkörperchen eingedrungene Parasit vergrößert sich fortgesetzt und geht aus der rundlichen Form (Taf. III, Fig. 37 und 38) in die einer dicken Birne über (Taf. III, Fig. 42), zuweilen durch ein amöboides Stadium hindurch, in dem er jedoch kein sehr unregelmäßiges und gezacktes Aussehen, wie es bei der Nuttallia equi der Fall ist, annimmt (Taf. III, Fig. 40).

Nachdem die Birne die notwendige Entwickelung erreicht hat, leitet ihr Kern vom vesikulären Typus Dofleins den Reproduktionsprozeß ein.

Die kompakte Chromatinmasse, d. h. das echte Karyosom, sendet zwei dünne Chromatinfäden mit kolbenförmig auslaufenden Enden aus, die gegen die Peripherie des Parasiten, und zwar besonders, in der Mehrzahl der Fälle gegen den verdünnten Teil der Birne ziehen (Taf. III, Fig. 43).

Sowie sie an der Grenze angelangt sind, hebt sich die Protoplasmakontur des Protozoon den beiden Enden der angedeuteten Fäden entsprechend, fast wie geschoben, empor, und bildet zwei kleine Vorwölbungen nach Art von Knospen, in die die Enden der Fäden selbst eindringen (Taf. III, Fig. 44). Die Knospenbildungen vergrößern sich dann fortgesetzt auf Kosten des Protoplasmas des ursprünglichen Parasitenleibes, der infolgedessen an Volumen abnimmt, während die ursprüngliche Kernchromatinsubstanz allmählich durch die Chromatinfäden hindurch in die neuen Elemente zu fließen scheint (Taf. III, Fig. 45 u. 46).

Die Knospen gewinnen indessen das Aussehen von zwei kleinen mit einem gemeinsamen, etwas rundlichen Körper, dem Ueberrest der ursprünglichen Protoplasmamasse, verbundenen Birnen; das Ganze nimmt dann das Aussehen eines Kleeblattes an (Taf. III, Fig. 46 u. 47).

Die jungen Formen nehmen immer mehr an Größe zu und die Kernsubstanz des ursprünglichen Parasiten geht vollständig in sie über. Von diesem bleibt nichts übrig als ein kleiner Protoplasmarest in Gestalt eines fast farblosen Bläschens (Taf. III, Fig. 48) oder eines kleinen unförmlichen Anhanges (Taf. III, Fig. 52).

Jetzt besitzen sie bereits das Kernsystem der bigeminen Birnen, nämlich eine in dem abgerundeten Teil der Birne gelegene kompakte Chromatinmasse (entsprechend den verdickten Enden der Initialfäden) und einen zweiten Kern von verschiedenartiger Gestalt, gegen den zugespitzten Teil der Birne selbst liegend. Diese 2 Kerne bleiben eine Zeitlang durch den primären Faden verbunden, der dann zerreißt, worauf sich die Ueberreste in die beiden Kernmassen zusammenziehen (Taf. III, Fig. 53).

Schließlich verschwindet der letzte Protoplasmarest des primären Parasiten und die beiden Birnen bleiben mit ihren zugespitzten Enden vereint, die sich dann nach einiger Zeit vollständig trennen.

Die Knospenbildungen erfolgen, wie gesagt, im allgemeinen gegen das verdünnte Ende der dicken ursprünglichen Birne (Taf. III, Fig. 44).

Andere Male hingegen entstehen sie auf einer der größeren Seiten (Taf. III, Fig. 49); in diesem Falle nimmt der Protoplasmaüberrest nach Bildung der beiden neuen Piroplasmen fast stets ein längliches Aussehen an (Taf. III, Fig. 50). Oder die beiden Knospen entstehen isoliert, je eine auf den zwei großen Seiten der Mutterzelle (Taf. III, Fig. 41); alsdann ordnen sich die daraus hervorgehenden Birnen und die Parasiten-

Generated on 2019-09-15 14:38 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

reste abwechselnd in Kreuzform an, die an die Gestalt eines 4-blättrigen Kleeblattes oder an die kreuzförmige Reproduktion der Nuttallia equi erinnert (Taf. III, Fig. 51).

Neben den zwei birnförmige Elemente enthaltenden roten Blutkörperchen kommen, wenn auch nicht sehr häufig, solche vor, in denen vier gezählt werden.

Diese vier endoglobulären Parasiten können nach meinen Untersuchungen auf zwei verschiedene Weisen entstehen, nämlich aus einer einzigen Initialform oder aus zwei dicken Birnen, die von zwei verschiedenen in denselben Erythocyten eingedrungenen Parasiten herrühren.

Im ersten Fall teilt das Protozoon, nachdem es die notwendige Entwickelung erreicht hat, seinen Kern in zwei Kernmassen, die sich im allgemeinen in zwei entgegengesetzte Punkte des Parasiten selbst zusammenziehen. Hier spielen sich in diesen Kernen die vorstehend beschriebenen Vorgänge ab, d. h. an einem jeden von ihnen bilden sich zwei Chromatinfortsätze, die, sich gegen die Peripherie verlagernd, im ganzen 2 Paaren von Knospen den Ursprung geben (Taf. III, Fig. 57). Diese vergrößern sich fortgesetzt auf Kosten des einzigen primären Parasiten und verwandeln sich in vier mit den verdünnten Enden verbundene oder nur nahe zusammenliegende Birnen (Taf. III, Fig. 59).

Dieser Vorgang der Reproduktion in vier gleicht, wie man sieht, gewissermaßen der kreuzförmigen Teilung der Nuttallia equi.

Im anderen Falle können die 4 Birnen aus zwei distinkten, in dasselbe rote Blutkörperchen eingedrungenen Parasiten hervorgehen. Alsdann erfolgt die Reproduktion bei einem jeden von ihnen in der bereits beschriebenen gewöhnlichen Weise und die eine unabhängig von der anderen. Beide können zu gleicher Zeit sich abspielen, wenn die beiden Elemente in derselben Entwickelungsperiode stehen; anderenfalls geht die eine der anderen voraus und dann werden in demselben Erythrocyten Reproduktionsformen in verschiedenen Stadien beobachtet (Taf. III, Fig. 58).

Durch den Zerfall der roten Blutkörperchen werden die birnförmigen Parasiten in das Plasma in Freiheit gesetzt (Taf. III, Fig. 60), in dem sie allmählich nicht nur ihre äußere Morphologie, sondern auch ihre Kernkonstitution verändern.

Einige dieser Formen dringen in neue, intakte rote Blutkörperchen ein, um den asexuellen Zyklus wieder zu beginnen; andere hingegen verwandeln sich wahrscheinlich in sexuelle Elemente, d. h. in männliche und weibliche Gameten.

Bei langer Beobachtung von parasitenreichen Präparaten ist es nicht schwierig, seltene freie Formen zu erkennen, an denen die speziellen Charaktere der Mikrogameten und der Makrogametocyten wahrgenommen werden können.

Die ersteren werden dargestellt (Taf. III, Fig. 61) durch birnförmige Elemente mit einem kompakten, intensiv rot färbbaren, gegen das Zentrum der Zelle gelegenen rundlichen Kern und einem ebenfalls ziemlich intensiv blau gefärbten Protoplasma.

Die Makrogametocyten (Taf. III, Fig. 62) würden dagegen gegeben durch ziemlich abgerundete Elemente, bestehend aus einem lockereren, himmelblau färbbaren Protoplasma und einem größeren Kern wie bei den vorbeschriebenen Makrogameten mit unregelmäßiger Kontur, gebildet durch eine diffuse Masse, in der kleine Chromatinhaufen (Granula und Stäbchen) bemerkt werden.

Generated on 2019-09-15 14:38 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Die Gametocytennatur dieser Elemente wird gewissermaßen dadurch bestätigt, daß in Ausstrichen von Magenblut einiger Zecken (Boophilus annulatus), die auf Pferden mit diesem Piroplasmosistypus gesammelt wurden, von mir morphologisch mit den beschriebenen identische Parasitenelemente beobachtet wurden.

Blutveränderungen. Die Blutveränderungen bei diesem Piroplasmosistypus der Pferde sind im allgemeinen weniger bedeutungsvoll als die auf der Nuttallia beruhenden.

Auch in ganz schweren Fällen ist die Oligocytämie nie sehr ausgeprägt gewesen, da ich ein Heruntergehen der Zahl der roten Blutkörperchen unter $3^1/_2$ Millionen pro Kubikmillimeter nicht habe verzeichnen können. Ebensowenig haben sämtliche die Erythrocyten selbst betreffenden Alterationen jemals den Grad der Schwere angenommen wie beim kleinen Typus.

Die roten Blutkörperchen ordnen sich, auch wenn sie piroplasmareichem Blut angehören, kaum geldrollenartig an. Was ich bei dieser Form habe bemerken können, ist, daß die Oberfläche der parasitenhaltigen Erythrocyten viskös und klebrig zu werden scheint. Diese Erscheinung kann sowohl an Präparaten in frischem Zustand wie an den gefärbten erhoben werden. In den ersteren sieht man einige Zeit nach Herstellung der Gläschen die roten Blutkörperchen mit Piroplasmen mit den Rändern aneinanderhaften und kleine Gruppierungen bilden, fast wie eine Agglutinationserscheinung. An den gefärbten Ausstrichen wird dieselbe Erscheinung beobachtet: während in einem großen Teil des Präparates nur ganz seltene Parasiten gesehen werden und solche zuweilen auch vollständig fehlen, finden sich dagegen an anderen Stellen Haufen von größtenteils parasitenhaltigen Erythrocyten. Ja in denselben Präparaten wird bei Färbung nach Romanowsky zuweilen beobachtet, daß die Konturen der genannten roten Blutkörperchen sich intensiv mit einem violetten Saum färben, was bei den benachbarten noch intakten roten Blutkörperchen nicht der Fall ist. Diese Erscheinung ist von mir außer bei der Babesiosis der Pferde auch bei der der Rinder konstatiert worden.

Uebertragung der beiden Piroplasmentypen der Pferde.

Natürliche Uebertragung.

Die Piroplasmosis der Pferde wie die der anderen Tiere wird durch verschiedene Zeckenarten übertragen. Das ist voll und ganz bestätigt worden vor allem durch die Versuche Theilers in Südafrika und durch die von Beilitzer und Marzinowsky in Rußland, wobei es gelang, die Krankheit durch diese Ektoparasiten zu übertragen.

Die als Ueberträger der Piroplasmosis betrachteten Ixodes sind der Rhipicephalus Evertsi in Transvaal, der Rhipicephalus decoloratus in Rhodesien, der Dermatocentor reticulatus in Rußland, der Ixodes Dugesi in Chaouïa (Algier), der Hyalomma aegyptiacum in Aegypten.

In Italien hatte Guglielmi Verdacht auf die Anopheles; Baruchello und Mori dachten an eine Muscidae, die Hippobosca equina; Pricolo weist auf Rhipicephalus sanguineus hin.

Gewiß hat die Tatsache, daß nicht in sämtlichen Fällen von Piroplasmosis equina Zecken aufgefunden werden können, bei uns viele zu der Annahme geführt, daß andere Parasiten außer den Ixodes die Krankheit übertragen können. Derselbe Zweifel kam auch Iolliffe und

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 14:38 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

William in Indien, da sie Fälle von Piroplasmosis konstatiert hatten, wo die Zecken äußerst selten waren.

Bei Untersuchung von zahlreichen Pferden mit Piroplasmosis, namentlich in Depots und Gestüten, habe ich gefunden, daß diese Vierfüßler fast immer von Ixodes, und zwar häufig in beträchtlicher Anzahl, heimgesucht waren. Dieselben gehörten zu den Arten Rhipicephalus bursa und Boophilus annulatus[1]); letztere war häufiger auf Pferden mit Babesia caballi.

Sind diese Zecken die wahren Ueberträger der Piroplasmosis equina in Italien? Um diese Frage beantworten zu können, habe ich verschiedene Versuche in der Hinsicht unternommen und verschiedenen Pferden nicht nur Zecken angesetzt, die einige Tage zuvor auf schwer an Piroplasmosis erkrankten Tieren im Zustand der Larve oder Nymphe gesammelt worden waren, sondern auch Larven, die im Laboratorium ausgeschlüpft waren und von auf denselben erkrankten Tieren gesammelten Müttern herrührten. Das Resultat der genannten Versuche ist stets ein negatives gewesen. Diesem negativen Ausgang kann jedoch kein großes Gewicht beigemessen werden, wenn man die wahrscheinliche Immunität der Pferde, an denen ich operierte, gegen dieses Protozoon bedenkt, die, wie wir weiter unten sehen werden, bei unserem Vieh sehr verbreitet ist.

Künstliche Uebertragung durch infiziertes Blut.

Die Ansichten der verschiedenen Beobachter über die Uebertragbarkeit der Piroplasmosis durch infiziertes Blut sind bis vor einiger Zeit nicht sehr übereinstimmend gewesen.

Bowhill, Dale, Ziemann u. a. behaupteten die Unübertragbarkeit. Theiler erhielt bei den ersten Versuchen ein negatives Resultat für die Uebertragung; die nachfolgenden Proben dagegen ergaben einen günstigen Ausgang, und zwar nicht nur bei Verwendung des Blutes kranker Tiere, sondern auch desjenigen von Pferden, die bereits seit längerer Zeit genesen waren. Positive Resultate wurden auch von Edington erhalten.

In Italien gelang es Baruchello und Mori, wie auch Pricolo nicht, die Krankheit zu übertragen; dagegen bekam Perrucci bei seinen Versuchen positiven Ausgang.

In der Kolonie Erythräa impfte ich ein abyssinisches Pferd mit 2 ccm stark mit Babesia infizierten Blutes direkt in die Jugularis. Das Pferd wurde lange Zeit hindurch einer rigorosen täglichen Untersuchung unterzogen, zeigte aber nie Zeichen der Krankheit, noch war es mir möglich, bei den zahlreichen mikroskopischen Blutuntersuchungen Parasiten zu beobachten.

In Italien habe ich diese Versuche fortgesetzt, wobei ich mich besonders dem hiesigen Laboratorium zugewiesener Pferde und anderer aus Depots und Gestüten bediente.

Zu dem Zweck habe ich stets an Parasiten (Typus Nuttallia und Babesiä) äußerst reiches Blut benutzt, das kurz vorher entnommen und sorgfältig defibriniert wurde. Als Weg zur Einimpfung verwendete ich den subkutanen und den intravenösen. In bezug auf die Virusmenge habe ich mich an die hohen Dosen, nicht unter 10 ccm, gehalten.

1) Die Arten wurden von Prof. Giulio Alessandrini des Instituts für experimentelle Hygiene an der Universität Rom klassifiziert.

Generated on 2019-09-15 14:38 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Die Resultate meiner Versuche, unter Ausschaltung derjenigen, die ich nicht persönlich habe verfolgen können, sind 3 positive Fälle auf 11 Versuche, von denen 7 mit Nuttallia equi und 4 mit Babesia caballi enthaltendem Blut ausgeführt wurden[1]).

Hinsichtlich der positiven Fälle lege ich kurz einige Daten dar, da sich aus ihnen Betrachtungen von einer gewissen Bedeutung, namentlich für die Differenzierung der beiden Parasitentypen, ableiten lassen.

Pferd No. 28, sardische Rasse; 5 Jahre alt.

Am 27. Mai 1912 wird es intravenös mit ca. 20 ccm defibrinierten, viele Parasiten vom kleinen Typus (Nuttallia equi) enthaltenden Blutes von einem erkrankten Pferd des in Rom liegenden 13. Artillerie-Regimentes geimpft.

Am selben Abend tritt eine leichte Fieberreaktion auf, die am Tage darauf verschwindet. An den folgenden Tagen zeigt das Pferd nichts Abnormes. Die vielmals wiederholte mikroskopische Blutuntersuchung fällt negativ aus. Der Ausgang ist deshalb ein negativer.

10. Juni 1912. Es wird intravenös mit ca. 15 ccm defibrinierten, sehr viele Elemente von Babesia caballi enthaltenden Blutes von einem schwer kranken Pferd des Depots und Gestütes von Fara-Sabina (Montemaggiore) geimpft.

14. Juni 1912. Das Tier zeigt bereits hohe Temperatur (39,5° C).

15. Juni 1912. Es treten die ersten Aeußerungen der Piroplasmosis auf: ziegelrote Färbung der Bindehaut. Hinterkörper in den Bewegungen behindert. Im Blut werden außerdem ganz spärliche Piroplasmaformen vom bigeminen Typus wahrgenommen.

16. Juni 1912. Die klinischen Erscheinungen haben sich verschärft, aber nicht übermäßig. Die Temperatur steigt auf 40,4° C. Die Parasiten im Blute werden zahlreicher.

17. Juni 1912. Die Temperatur hält sich stets hoch (40,2° C). Die anderen klinischen Erscheinungen dauern wie am vorhergehenden Tage fort. Am 3. Lid treten einige Petechien auf. Die Parasiten im Blut sind wieder äußerst selten geworden.

18. Juni 1912. Das Tier wird merklich besser; die Temperatur ist auf 38,6° C herabgegangen. Im Blut werden keine Parasiten mehr angetroffen.

20. Juni 1912. Das Pferd ist fast geheilt.

Der Ausgang muß daher als entschieden positiv betrachtet werden.

31. Mai 1913. Dasselbe Tier wird intravenös mit 20 ccm viele Formen von Babesia caballi enthaltenden Blutes aus dem Depot und Gestüt von Portovecchio (Sermide) geimpft.

Bis auf eine leichte Fieberreaktion am selben Abend der Einimpfung zeigt das Tier keine auf eine erfolgte Infektion bezüglichen klinischen Erscheinungen; ebensowenig ist es möglich, irgendeinen Parasiten in dem Blut anzutreffen.

Das Resultat ist daher vollständig negativ, ebenso wie sich alle späteren Einimpfungen mit stärksten Dosen Piroplasmenblutes negativ verhalten.

Pferd No. 38, irländische Rasse; 5 Jahre alt.

3. Juli 1913. Subkutane Impfung mit ca. 12 ccm defibrinierten Blutes von einem erkrankten Pferd der Scuola Centrale di Artiglieria in Nettuno mit starkem Gehalt an Parasiten von Babesia caballi.

9. Juli 1913. Leichte Temperatursteigerung (38,9° C), einhergehend mit unbestimmten klinischen Erscheinungen. Die Blutuntersuchung zeigt spärliche Piroplasmaelemente vom bigeminen Typus.

10. Juli 1913. Die Temperatur erreicht 39,8° C; die übrigen Symptome sind etwas deutlicher. Die Parasiten im Blut sind vermehrt.

11. Juli 1913. Die Temperatur erreicht ein Maximum von 40° C; die anderen klinischen Symptome bestehen fort. Die Parasiten im Blut sind fast verschwunden.

12. Juli 1913. Die Temperatur kehrt ungefähr zur Norm zurück; das Tier wird merklich besser. Die Blutuntersuchung fällt negativ aus.

15. Juli 1913. Das Pferd zeigt sich vollständig geheilt.

1) Außer den Uebertragungsversuchen auf Pferde wurden in dem hiesigen Laboratorium auch Proben an zwei jungen Eseln sardinischer Rasse versucht, wobei für die Einimpfungen parasitenreiches Blut sowohl der kleinen wie der bigeminen Form benutzt wurde. Die Resultate der wiederholten Proben an diesen Tieren waren stets negativ sowohl klinisch wie hämatologisch.

Generated on 2019-09-15 14:38 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Der Ausgang muß daher als positiv betrachtet werden.

18. Juli 1913. Demselben Pferd werden intravenös ca. 15 ccm viele Piroplasmen vom Typus Parvum (Nuttallia) enthaltenden Blutes von einem schwer erkrankten Pferd des Kavallerieregimentes Piemonte Reale Cavalleria eingeimpft. Am selben Abend wird eine leichte Temperatursteigerung beobachtet, die am folgenden Tage stärker wird.

20. Juli 1913. Es werden einige Symptome der Piroplasmosis konstatiert. Die Blutuntersuchung zeigt ganz seltene Piroplasmenformen vom Typus Nuttallia.

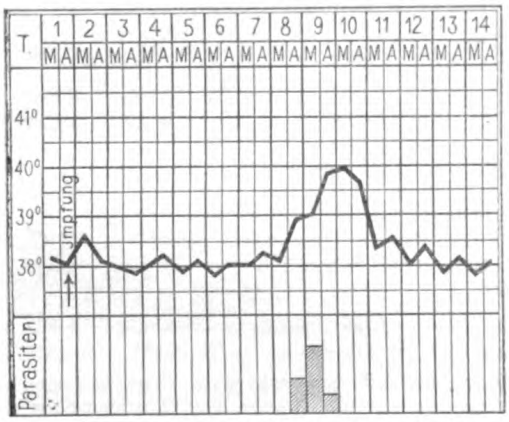
21. Juli 1913. Die klinischen Erscheinungen werden deutlicher. Die Parasiten im Blut sind merklich vermehrt.

22. Juli 1913. Das Tier ist etwas niedergeschlagen; die Temperatur erreicht 40,2° C; die Bindehaut ist zitronengelb verfärbt.

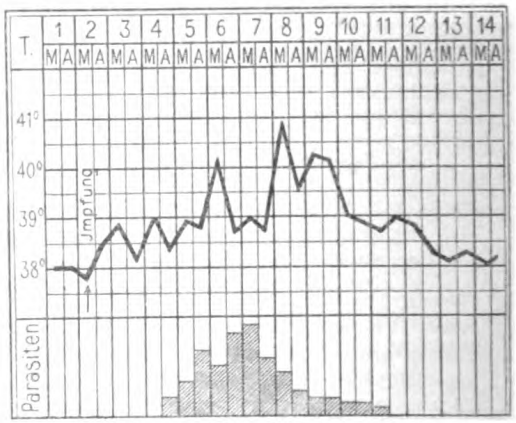
Die Parasiten sind immer zahlreicher.

23. Juli 1913. Das Tier ist immer niedergeschlagen, trotz der niedrigen Temperatur (39° C). Die Schleimhäute sind entschieden ikterisch; es werden keine Blutaustritte mehr bemerkt. Die Zahl der Parasiten erreicht das Maximum.

Fieberkurve 1.
Irländisches Pferd, 5 Jahre alt.
B. caballi.



Fieberkurve 2.
Irländisches Pferd. 5 Jahre alt.
Nuttallia equi.



Kurve 1. Pferd No. 38, mit Piroplasma vom Typus Bigeminum (Babesia caballi) geimpft. Ausgang: Heilung.

Kurve 2. Pferd No. 38, mit Piroplasma vom Typus Parvum (Nuttallia equi) geimpft. Ausgang: Heilung.

24. Juli 1913. Das Tier erscheint schlimmer; vollständige Anorexie, Atmung häufig, Puls klein und schnell; reichliche Schweißausbrüche; Schwanken der Hinterkörpers; Temperatur ca. 41° C. Die Parasiten jedoch sind stark vermindert.

25. Juli 1913. Das Pferd wird merklich besser, trotz der noch hohen Temperatur (40,2° C). Die Piroplasmen im Blut sind äußerst spärlich.

26. Juli 1913. Die Besserung fährt fort. Höchste Temperatur 39° C. Einige seltene Parasiten noch im Blut.

30. Juli 1913. Das Tier scheint vollständig geheilt.

Der Ausgang dieser Probe ist somit entschieden positiv gewesen.

Diese Uebertragungsversuche bringen verschiedene Tatsachen zu unserer Kenntnis, auf die es angezeigt sein dürfte, etwas näher einzugehen.

Vor allem bestätigen sie voll und ganz die Verimpfbarkeit der Piroplasmosis durch infiziertes Blut.

Gleichzeitig zeigen sie uns, daß die positiven Uebertragungsfälle bei uns gegenüber den unternommenen Versuchen sehr beschränkt sind (3 auf 11). Dies beruht zweifellos darauf, daß ein großer Teil unserer Pferde gegen diese Krankheit immunisiert ist.

Generated on 2019-09-15 14:38 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Es ist allseitig bekannt, daß bei den Rindern die Babesia bovis durch infiziertes Blut übertragbar ist. Nun habe ich in der Kolonie Erythräa in Hunderten von Fällen versucht, die Krankheit durch an Parasiten äußerst reiches Blut, das auf verschiedenen Wegen eingeimpft wurde, auf Rinder von verschiedenen lokalen Rassen und verschiedenen Alters zu übertragen. Das Resultat ist stets ein negatives gewesen [1]), eben deshalb, weil dieser Piroplasmosistypus in jenen Gegenden äußerst verbreitet ist und sämtliche Tiere relativ immun dagegen sind, sei es daß sie bereits in den ersten Lebensmonaten die Krankheit durchgemacht haben oder auch durch hereditäre Erscheinungen. Das Gleiche ist bei den Pferden in Italien der Fall: Die weite Verbreitung der Krankheit hat bei unserem Vieh einen gewissen Immunitätszustand geschaffen, der sich mit der Zeit in den sukzessiven Generationen fixiert hat. Diese spezielle Immunität, die zwischen der erworbenen und der natürlichen in der Mitte steht, ist keine absolute, sondern nur eine relative. Die Pferde, die den Angriffen der Zecken (der definitiven Wirte und Ueberträger des fraglichen Parasiten) ausgesetzt sind, werden zum großen Teil infiziert; von diesen infizierten erkranken verschiedene unter dem klinischen Bild der Piroplasmosis, bei anderen bleibt die Infektion im Zustand der Latenz; in beiden Fällen jedoch bilden sie wahre Virusreservoire, imstande neue Zecken zu ernähren, die, sich ihrerseits auf neuen Tieren festsetzend, die Infektion verbreiten und durch wiederholte Parasitenfuhren die Widerstandskraft der Pferde selbst gegen die Piroplasmen erhöhen.

Es ist wohl begreiflich, daß an diesen solchermaßen natürlich immunisierten Vierfüßlern die Impfungen mit infiziertem Blut nur negative Resultate ergeben können. Wir sehen in der Tat, daß beim Pferd 28 auch 1 Jahr nach der durchgemachten Infektion die Einimpfung einer starken Virusdosis desselben Parasiten zu keinerlei ersichtlichen Folgen führte.

Die Uebertragungsversuche werden nur dann positiv ausfallen, wenn sie an Pferden vorgenommen werden, die aus piroplasmosisfreien Oertlichkeiten kommen. Dies beobachten wir beständig in der Praxis, wo wir während der Endemie dieses Protozoon konstatieren, daß besonders die nach Italien importierten Pferde, die argentinischen, die irländischen, die der Bretagne, die normannischen, die ungarischen etc., und zwar speziell die der letzten und vorletzten Remonte es sind, die am schwersten erkranken und die die größte Anzahl von Fällen bei den Piroplasmaaffektionen stellen.

Eine weitere Tatsache von größter Wichtigkeit können wir aus diesen Uebertragungsversuchen ableiten, nämlich daß sich in dem geimpften Pferde, wenn es positiv auf die Probe reagiert, derselbe für die Einimpfung verwendete Parasitentypus reproduziert: Das P. parvum gibt das P. parvum; das P. bigeminum gibt nur diese Form. Dieses Resultat läßt uns den Verdacht ausschließen, daß die zwei Piroplasmentypen verschiedene Stadien desselben Parasiten bilden könnten, oder

1) Die Einimpfungen von das Piroplasma und gleichzeitig das Rinderpestvirus enthaltendem Blut, wie auch die Einimpfungen des Piroplasma in Gesellschaft des Trypanosoma abyssinicum können zuweilen zur Entwickelung des Piroplasma in dem geimpften Rind führen. Aber auch in diesem Falle können wir nicht mit Sicherheit sagen, ob es sich um eine echte Uebertragung oder um ein Wiedererwachen des Parasiten selbst handelt, der sich bis dahin in einem Zustand der Latenz gehalten hatte.

Generated on 2019-09-15 14:39 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

daß, wie vermutet worden ist, die bigeminen Birnformen die der akuten Piroplasmosis eigenen Elemente seien, während der Typus Nuttallia die chronische gäbe.

Außerdem geht aus den angeführten Versuchen hervor, daß sich die Pferde angesichts der beiden Piroplasmentypen immun gegen beide, nur für einen oder gegen beide empfänglich zeigen können und daß daher die von der einen der beiden Piroplasmosisformen geheilten Tiere die andere bekommen können.

In der Tat bekommt das Pferd 28 von sardinischer Rasse, das, wahrscheinlich infolge überstandener Krankheit, gegen Nuttallia equi immun war, dagegen die Babesia caballi, und das Pferd 38 irländischer Rasse und neuer Remonte erkrankt nach vollständiger Heilung von einer übertragenen Infektion mit Babesia caballi infolge Impfung mit Nuttallia equi an Nuttalliosis.

Die Resultate dieser Uebertragungsversuche, die mit den von Nuttall und Strickland in England über denselben Gegenstand erhaltenen übereinstimmen, bestätigen durch diese speziellen Immunitätserscheinungen voll und ganz die Verschiedenheit der Typen des Piroplasma equinum, die bereits bei der morphologischen Untersuchung des Parasiten selbst konstatiert worden war.

Klinische, pathologisch-anatomische und epizootiologische Besonderheiten der durch die beiden Typen des Piroplasma equinum erzeugten Affektionen.

Nachdem so die beiden vorkommenden Typen des Piroplasma equinum sowohl durch ihre besonderen morphologischen Eigenschaften wie auch durch die Immunitätserscheinungen scharf individualisiert sind, erhebt sich von selbst die Frage, ob diesen zwei verschiedenen Parasitenformen zwei verschiedene Krankheiten bei den Pferden entsprechen.

Aus den Fällen, die ich klinisch und durch die mikroskopische Blutuntersuchung vom Beginn der Infektion bis zur vollständigen Heilung oder bis zum Tode persönlich habe verfolgen können, wie auch aus zahlreichen in vielen Piroplasmosisherden Italiens, die mikroskopisch in dem hiesigen Laboratorium sichergestellt wurden, gesammelten Daten muß ich schließen, daß die beiden durch Nuttallia equi und durch Babesia caballi erzeugten Krankheiten (Nuttalliosis und Babesiosis) wenigstens bei uns leichte Besonderheiten in der klinischen Form und in den pathologisch-anatomischen Läsionen aufweisen, die für die epizootiologischen Charaktere etwas bedeutender werden.

In kurzen Zügen möchte ich auf die Hauptunterschiede hinweisen, die diese beiden Affektionen trennen.

Klinische Form. In bezug auf die Dauer der Krankheit besitzen wir bei der Piroplasmosis equina eine akute Form, die das Tier in 3—4 Tagen und zuweilen auch in kürzerer Zeit zum Tode führen kann; eine subakute Form, bei der die Krankheit sich über ca. 6 bis 12 Tage hinziehen kann, und eine chronische Form, die gegen 3 bis 4 Wochen und darüber dauern kann.

Die Babesia caballi bedingt pathologische Zustände, die in den akuten und subakuten Formen und ganz besonders in den letzteren enthalten sein können; niemals ist es mir möglich gewesen, hier die chronische Form zu beobachten. Die Nuttalliosis dagegen kann die 3 Formen annehmen mit Einschluß der chronischen, die in den durch

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 14:39 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

diesen Piroplasmatypus bedingten Herden nicht schwierig zu beobachten ist.

Was die Schwere und den Ausgang der fraglichen Affektionen anbelangt, so ergibt sich mir, daß die schweren Formen mehr den Infektionen durch Nuttallia eigen sind, denen auch die größte Anzahl der Verluste namentlich bei den importierten Pferden zuzuschreiben ist. Die durch den bigeminen Typus bedingte Erkrankung hat in Italien im allgemeinen einen ziemlich benignen Verlauf und endigt selten mit dem Tode. In dieser Hinsicht muß ich bemerken, daß bei einer Endemie reiner Babesiosis, die in der zweiten Hälfte des Mai des laufenden Jahres unter den Tieren neuer Remonte des Pferdedepots und -Gestüte von Portovecchio beobachtet wurde, auf ca. 60 befallene Pferde kein Exitus folgte, trotzdem verschiedene der erkrankten Tiere erst seit kurzer Zeit von typhoiden Affektionen mit Lungenkomplikationen genesen waren.

Bei der Babesiosis ist überdies die Rekonvaleszenz eine kurze, und auch die schwer erkrankten Tiere erholen sich ziemlich rasch. Bei der Nuttalliosis dagegen ist sie im allgemeinen sehr lang und einige Symptome, namentlich die Anämie, verschwinden nur langsam.

Die ikterische Farbe der sichtbaren Schleimhäute und die Anwesenheit von Petechien auf den Schleimhäuten selbst sind beiden Affektionen gemeinsam. Bei der Nuttalliosis neigt jedoch die Farbe in gewissen Stadien der Erkrankung zum Zitronengelb infolge des anämischen Grundes der Schleimhaut. Bei der Babesia hingegen nähert sich die Farbe eher dem Rötlichgelb oder dem Ziegelrot. Bei letzterer Form zeigt sich die ikterische Verfärbung überdies nur bei vorgerückter Krankheit.

Was die Symptome zu Lasten des Nervensystems anbelangt, so sind der Zustand der Schläfrigkeit, die Prostration, die Abstumpfung der Sinne beiden Affektionen gemeinsam: Ihre Bedeutung hängt im allgemeinen von der Schwere der Erkrankung ab. In den Bewegungen zeigen die an Babesiosis leidenden Pferde eine einfache Behinderung oder ein leichtes Schaukeln des Hinterkörpers; bei der Nuttalliosis dagegen bekommt man ein wahres Schwanken mit beständiger Drohung des Hinstürzens und zuweilen eine echte Parese oder auch Paralyse des Hinterkörpers selbst.

Die Hämoglobinurie ist nicht konstant, noch häufig. Wenn sie auftritt, rührt sie fast stets von Infektion mit Nuttallia her. Bei der Babesiosis, auch der schweren, habe ich nur trüben Harn beobachtet, der in den ganz schweren oder tödlichen Fällen stark ikterisch werden kann.

Der Fieberverlauf zeigt bei den zwei Piroplasmosistypen merkliche Unterschiede, die ich durch den Vergleich zahlreicher Fieberkurven von durch die mikroskopische Blutuntersuchung sichergestellten Nuttalliosis- und Babesiosis-Fällen habe nachweisen können.

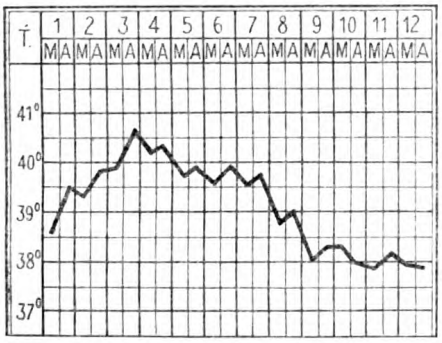
Der Anfang erfolgt bei beiden Krankheiten ungefähr in derselben Weise. Die größten Höhen werden bei den Infektionen mit Nuttallia erreicht, während deren die Temperatur 42,5° überschreiten kann; im allgemeinen jedoch schwankt sie zwischen 41 und 42°, während sie bei den Babesia-Infektionen von 40—41° geht.

Die Entfieberung erfolgt ziemlich rasch bei der Babesiosis, während bei der Nuttalliosis die Rückkehr zur Norm sich langsamer und durch eine Reihe von absteigenden Oszillationen hindurch bewerkstelligt.

Generated on 2019-09-15 14:39 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Der Fiebertypus bei den Babesia-Infektionen ist vielmals ein kontinuierlicher oder besser gesagt ein subkontinuierlicher, indem er Remittenzen von Zehnteln eines Grades aufweist. Bei der Nuttalliosis dagegen nähert er sich den rekurrierend-intermittierenden Typen, indem wahre multiple Anfälle, getrennt durch Pausen, auftreten, während deren die Temperatur zur Norm zurückkehrt oder sich leicht übernormal hält. Bei dieser Form schwankt die Dauer der Anfälle von 1—3 Tagen, die der Pausen von 1—7 Tagen. In den schweren Fällen streben die Anfälle, an Dauer zuzunehmen, während die Zwischenzeiten kürzer werden, so daß die Fieberkurve das Aussehen eines fast kontinuierlichen Fiebertypus bekommt. Das Gegenteil tritt im allgemeinen ein, wenn das Tier den Weg zur Heilung betritt.

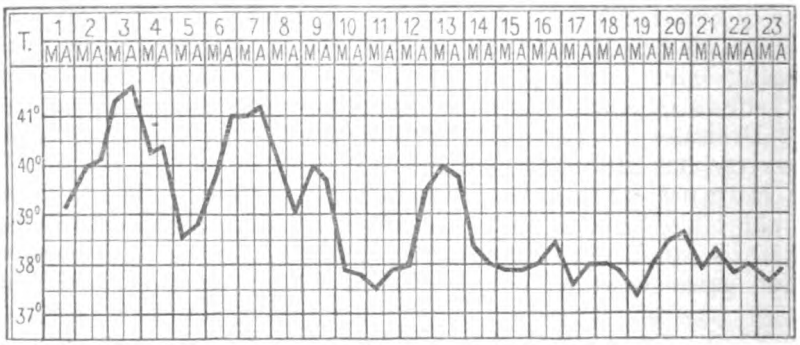
Fieberkurve 3.
Argentinisches Pferd, 6 Jahre alt.
B. caballi.



Fieberkurve 5.
Pferd der Bretagne, 4 Jahre alt.
B. caballi und N. equi.



Fieberkurve 4.
Irländisches Pferd, 6 Jahre alt. Nuttallia equi.



Kurve 3. Natürliche Infektion mit Piroplasma vom Typus Bigeminum (Babesia caballi). Ausgang: Heilung.
Kurve 4. Natürliche Infektion mit Piroplasma vom Typus Parvum (Nuttallia equi). Ausgang: Heilung.
Kurve 5. Natürliche Mischinfektion: Babesia caballi und Nuttallia equi. Ausgang: Infaust.

Während der Anfälle werden echte Remittenzen verzeichnet, die nicht immer mit den Morgenstunden zusammenfallen.

In den Fällen, wo in demselben Individuum gleichzeitig der Typus des P. parvum und der des P. bigeminum vorhanden sind, treten die Symptome im allgemeinen mit einer gewissen Schwere auf und der Fiebertypus strebt alsdann ein kontinuierlicher zu werden.

Generated on 2019-09-15 14:39 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Sowohl bei den Infektionen durch Nuttallia wie bei denen durch Babesia entspricht die höchste Temperatur nicht immer der größten Zahl der im Blute auffindbaren Parasiten[1]).

Pathologisch-anatomische Schädigungen. Die Läsionen, die bei den durch die zwei Piroplasmentypen erzeugten Affektionen angetroffen werden, sind von der gleichen Natur; sie unterscheiden sich nur in der Intensität: Namentlich sind es die an Nuttalliosis verendeten Pferde, die die schwersten pathologisch-anatomischen Läsionen aufweisen. Die Milz namentlich kann bei dieser Form sehr große Dimensionen erlangen. In ihr und in geringerem Maße auch in der Leber habe ich außerdem sowohl an den Schnitten wie an den Ausstrichen mehr oder weniger bedeutende Haufen ockergelben Pigments (Hämosiderin) angetroffen, was ich niemals in denselben Organen an Babesia-Infektion verendeter Pferde beobachtet habe.

Epizootiologische Charaktere. Die Unterschiede, nach der epizootiologischen Seite, zwischen den zwei Piroplasmosistypen sind bedeutender als die klinischen und pathologisch-anatomischen.

Was die Verbreitung und die Verteilung der zwei parasitären Formen anbelangt, so habe ich aus den zahlreichen Beobachtungen sowohl an den Pferden des Kgl. Heeres wie an solchen in Privatbesitz konstatieren können, daß die Nuttallia equi der verbreitetste Typus in Italien ist. Es gibt keine Gegend mehr, in der sie nicht mehr oder weniger häufig angetroffen worden ist. Ueberdies scheint derselbe Parasit der verbreitetste Typus auf der Welt zu sein, wenigstens nach den vielfältigen Veröffentlichungen in der Hinsicht zu urteilen.

Die Babesia caballi wird bei uns nicht überall beobachtet; das Gebiet ihrer Herrschaft ist daher viel beschränkter. Gefunden habe ich sie in den Pferden der Besatzung von Rom, die von den Schießplätzen von Nettuno und Bracciano kamen; in den Pferden des Depots und Gestütes zu Fara-Sabina (Montemaggiore); in dem Depot von Persano, in dem Depot von Portovecchio (Sermide), in einigen Oertlichkeiten Apuliens, immer jedoch in Pferden, die auf der Weide gehalten wurden oder aus Oertlichkeiten kamen, wo sie Gelegenheit hatten, einige Zeit auf Wiesen zu verweilen.

Auch außerhalb unseres Landes scheint diese Form eine spärliche Verteilung zu haben. Mit Sicherheit wissen wir, daß sie in Rußland, in Transkaukasien, in Rhodesien und in der Kolonie Erythräa vorkommt, in welch letzterer sie, wie gesagt, von mir in reinem Zustand beobachtet worden ist.

Auf unserer Halbinsel können sich die durch diese zwei Parasitentypen bedingten Infektionen isoliert in reinen Herden abspielen oder aber gleichzeitig in derselben Lokalität, indem sie in der nämlichen Zeit die dort vorhandenen Pferde befallen. In letzterem Falle kann man

1) Mit einer gewissen Häufigkeit habe ich konstatieren können, daß mit der raschen Verminderung der Zahl der parasitären Elemente im Blute eine Steigerung der Temperatur und eine Verschlimmerung des Zustandes des erkrankten Tieres (Schweißausbrüche, Tremor, Frequenz des Pulses und der Atmung etc.) zusammenfällt. Diese Erscheinung ist zweifellos dadurch zu erklären, daß infolge des Abbaues der Piroplasmen besondere Toxine frei werden, die verschlimmernd auf den Zustand des kranken Tieres wirken und zuweilen sogar seinen Tod herbeiführen. Auf diese Weise würde sich der Exitus einiger an Piroplasmosis leidenden Tiere erklären, in denen bei der im Augenblick des Todes vorgenommenen mikroskopischen Blutuntersuchung nur ganz spärliche Piroplasmenformen nachgewiesen werden, die an und für sich zur Erklärung des letalen Ausganges nicht hinreichend sind.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 14:39 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

unschwer Pferde gleichzeitig an beiden Piroplasmosisformen oder zweimal nacheinander erkranken sehen.

Was die natürliche Uebertragung anbelangt, so muß ich, da ich, wie ich an anderer Stelle gesagt habe, an Pferden mit Nuttalliosis den Rhipicephalus bursa und an Pferden mit Babesiosis den Boophilus annulatus angetroffen habe, annehmen, daß diese Ektoparasiten die Uebertragung der betreffenden Piroplasmen vermitteln.

In der Hinsicht muß ich jedoch hinzufügen, daß es mir zwar stets möglich gewesen ist, bei den Infektionsfällen mit Babesia caballi die angeschuldigte Zecke auf den betreffenden Tieren zu finden, dies aber bei den Nuttalliosis-Fällen nicht immer der Fall war. Ja bei einigen der letzteren habe ich von den diesen Tieren zugewiesenen Personen die entschiedenste Versicherung erhalten, daß sie die Pferde zu jener Zeit niemals auf die Wiese geführt, noch ihnen Grünfutter verabfolgt und erst recht keine Ixoden auf ihnen angetroffen hatten.

Damit ist festgestellt, daß, während die Babesia ausschließlich Pferde befällt, die sich auf der Weide befinden oder kurz vorher dort gewesen sind, die Nuttallia nicht nur bei auf dem Felde gehaltenen Pferden, sondern auch bei vollständig im Stalle lebenden, bei denen sich somit keine Zecken ansetzen können, auftreten kann.

Was die Jahreszeit anbetrifft, so können wir, ganz streng genommen, nicht sagen, daß die Piroplasmosis eine ausschließliche Krankheit der heißen Monate ist. Während des Frühlings und des Sommers beobachten wir die Höchstzahl der Befallenen, aber auch im Herbst und im Winter können wir Krankheitsfälle, wenngleich in sporadischer Form oder in kleinen Herden antreffen.

Im allgemeinen sind die Infektionsformen mit Babesia caballi von mir im Frühling, und zwar besonders in den Monaten Mai und Juni beobachtet worden. Die Erkrankungen durch Nuttallia sind dagegen zahlreicher in den Monaten Juni, Juli und August.

Ein ausgesprochener Unterschied in der Art und Weise des Auftretens der zwei Piroplasmentypen ist dadurch gegeben, daß die Fälle von Nuttalliosis sich auch während der kalten Jahreszeit (Herbst und Winter) ereignen können, während dies bei der Babesiosis niemals geschieht.

Von diesen Winterfällen, die bisher unbeobachtet geblieben sind, erwähne ich die wichtigsten: Treviso (Dezember 1911), Pesaro (Dezember 1911, Januar 1912), Treviso (November 1912[1]), Nola (September 1912), Rom und Pisa (November 1912), Persano (Dezember 1912), die weniger durch die klinischen Symptome als durch wiederholte mikroskopische Blutuntersuchungen sichergestellt wurden.

Während dieser kleinen, in der kalten Jahreszeit aufgetretenen Herde war es nicht möglich, Zecken aufzufinden, um so mehr als die Mehrzahl der erkrankten Pferde zur Zeit der Erkrankung im Stalle standen.

Hier erhebt sich nun die Frage, wie können wir diese Winterfälle von Nuttalliosis, bei denen die Zecken als Ueberträger nicht beschuldigt werden können, erklären?

Auf zwei Weisen: Entweder durch die Annahme, daß bei diesem Piroplasmatypus (Nuttallia equi) die Ixoden nicht die einzigen Ueberträger sind und daß somit andere Ektoparasiten (wie von verschiedenen

1) Zwei der zu dieser Zeit in Treviso erkrankten Pferde waren bereits ca. 4 Monate vorher an Piroplasmosis erkrankt gewesen.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 14:39 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Beobachtern bei uns und auch von Jolliffe und von Williams in Indien vermutet worden ist) im Spiele sind, die in den von den Pferden bewohnten Räumen leben und auch in der winterlichen Jahreszeit zugegen sind; oder durch die Annahme der Existenz von latenten Infektionsformen und von Rezidivbildungen bei diesem Haemosporidium, so wie namentlich bei der menschlichen Malaria und bei anderen Piroplasmeninfektionen konstatiert worden ist.

Ich bin für letztere Erklärung.

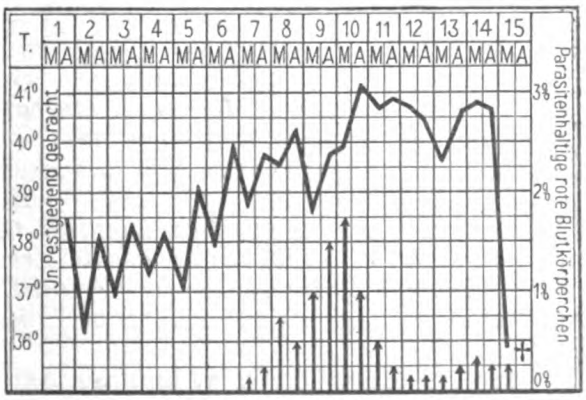
Bei vielen Protozoenerkrankungen kommt eine besondere Infektionsform ohne erkennbare oder beachtenswerte klinische Manifestationen vor, dadurch bedingt, daß die pathogene Wirkung des Parasiten, ohne vernichtet zu sein, durch die Widerstands- und Abwehrkräfte des invadierten Organismus vollkommen aufgewogen wird. Dieser spezielle Zustand, der unter der Bezeichnung larvierte oder latente Erkrankung geht, ist als das Produkt eines wahren unstabilen Gleichgewichts zwischen der Wirkung der angreifenden und der der abwehrenden Kräfte aufzufassen: es braucht in der Tat nur irgendeine Ursache dieses Gleichgewicht zu durchbrechen, z. B. durch Herabsetzung der Widerstandsfähigkeit des Tieres, damit sofort die Entwickelung der Krankheit mit ihrem ganzen charakteristischen Bild einsetzt.

Auf diese Weise erklärt sich die Rezidivbildung, d. h. das Auftreten von krankhaften Erscheinungen einige Zeit nach erfolgter Infektion.

Die zur Rezidivität prädisponierenden Ursachen können verschiedene sein: ich verweise unter anderem auf die spärliche Ernährung, die übermäßige Arbeit, die rheumatisierenden Agentien (Kälte, Feuchtigkeit Regen usw.), den Klimawechsel, einige Krankheiten etc.

Bei den Piroplasma-Affektionen ist die Latenz und die Rezidivbildung nichts Neues. Während meines langen Aufenthaltes in der Kolonie Erythräa ist es mir bei den Arbeiten zur Herstellung des Serums gegen die Rinderpest und während der Vaccinationen gegen dieselbe Krankheit möglich gewesen zu beobachten, daß Rinder (die allem Anschein nach vollkommen gesund waren), wenn sie inmitten natürlicher Herde spontan die Pest bekamen oder künstlich durch volles oder durch Porzellanfilter filtriertes Pestblut damit infiziert wurden, sehr oft während

Fieberkurve 6.
Abyssinischer Stier, 2 Jahre alt.
Rinderpest und Babesia bovis.



Kurve 6. Rinderpest kompliziert mit Babesia bovis. Natürliche Infektion, die sich das Tier zuzog, als es in eine zeckenfreie Pestgegend gebracht wurde. Die ersten Symptome der Krankheit beginnen gegen den 5.—6. Tag des Aufenthaltes an dem infizierten Ort. Am 7. Tage treten die ersten Piroplasmen im Blute auf und verbleiben darin, mehr oder weniger zahlreich, bis zu dem Tode, der am 11. Tage der Krankheit eintritt. Die klinischen Symptome und die vorherrschenden pathologisch-anatomischen Läsionen sind die der Pest; zu Lasten der Piroplasmosis ist eine subikterische Verfärbung fast sämtlicher Gewebe und eine leichte Milzanschwellung zu verzeichnen.

Generated on 2019-09-15 14:39 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

der Entwickelung der fraglichen Infektion das Piroplasma bigeminum im Kreislauf aufwiesen und nicht selten in solcher Menge, daß dadurch der Tod des Tieres unter sämtlichen Symptomen der akuten Piroplasmosis herbeigeführt wurde.

Diese Tatsache war bereits während der Untersuchungen von Nicolle und Adil-Bey bei der Rinderpest konstatiert worden und wurde von vielen anderen Beobachtern bestätigt.

Bei den Pferden hat Theiler über denselben Gegenstand in Transvaal beobachtet, daß mit Pferdepest (hors-sickness) infizierte Pferde häufig während des Verlaufes der Krankheit das Piroplasma im Blute aufweisen.

Bowhill hat in Südafrika dieselbe Erscheinung angetroffen. Thiroux fand auf Madagaskar das Piroplasma in Pferden, die an einer besonderen chronischen Krankheit von osteomalakischer Natur litten. Schein beobachtete in Annam dasselbe Haemosporidium in Pferden mit Surra (Trypanosoma Evansi).

In Italien meldet Mello einen Fall von Anasarka, kompliziert mit Piroplasmosis. Piot-Bey in Aegypten macht dieselbe Feststellung an 3 Pferden, von denen 2 aus unserem Land importiert waren.

Im Dezember 1911 und Januar 1912 konnte ich bei Gelegenheit einer diffusen Pleuropneumonieinfektion im 2. Artillerie-Regiment zu Pesaro 7 Piroplasmosisfälle vom Typus Nuttallia bei vielen an zahlreichen erkrankten Tieren ausgeführten Blutuntersuchungen konstatieren. Im November 1912 während einer Typhoidinfektion beim 7. Artillerie-Regiment zu Pisa verzeichnete ich 5 Fälle von Nuttalliosis, während ich im Dezember des gleichen Jahres noch einen unter einigen an Pleuropneumonie leidenden Pferden der Besatzung von Rom auffand.

Diese Feststellungen können nicht anders denn als Rezidive gedeutet werden: In Pferden mit latenten Nuttallia-Infektionen findet das Piroplasma durch das Hinzutreten eines neuen, den Organismus schwächenden pathologischen Zustandes das geeignete Milieu zur Entfaltung seiner Wirkung, die so die hinzugekommene Krankheit kompliziert.

Die Affektionen, die beim Pferde zu diesem Wiederentfachen der Piroplasmosis führen können, sind, wie wir gesehen haben, die Pferdepest, Anasarka, Typhus, andere Protozoen. — Ich vermute aber, daß dies nicht die einzigen sind und daß andere Infektionen, namentlich während der Sommermonate, ebenso wirken können.

Und denselben Einfluß müssen außer den pathologischen Zuständen auch die schwächenden Faktoren überhaupt ausüben, wie übermäßige Arbeit, spärliche und schlechte Ernährung, Wechsel des Klimas, rheumatisierende Ursachen etc., die durch Herabsetzung der Widerstandskraft des Organismus das Piroplasma zur Entwickelung bringen können.

Nur auf diese Weise, d. h. unter Annahme der Latenz und des Rezidivs, können wir die Entstehung jener Fälle von Nuttalliosis erklären, die sich uns sowohl während des Sommers wie in der winterlichen Jahreszeit darbieten, bei denen vergebens nach der Anwesenheit der das fragliche Haemosporidium bewirtenden und seine Uebertragung vermittelnden Ektoparasiten gesucht wird.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 14:39 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Allgemeine Systematik der Piroplasmen und Stellung der zwei Parasitentypen der Pferde.

Laveran teilt in seiner Klassifikation der endoglobulären Hämatozoen oder Haemocytozoa (1905) diese Mikroorganismen in 3 Gruppen: Haemoamoeba, Haemogregarina und Piroplasma; in letztere schließt er jedoch auch die Leishmania ein.

Doflein stellt in seinem Lehrbuch der Protozoen (1909) sämtliche Piroplasmen in die eine Gattung Babesia, die er der Familie Haemogregarinidae einreiht. Ebenso tun viele andere Autoren der Parasitenkunde, d. h. sie vereinigen sämtliche Piroplasmen in einer einzigen Gattung, der sie so viele Arten unterordnen wie es Wirtstiere gibt, in denen sie aufgefunden werden.

Die neueren Untersuchungen über diese Hämocytozoen haben jedoch gezeigt, daß sie nicht in derselben Gattung zusammengestellt werden können, da die zahlreichen Piroplasmenformen, die in den verschiedenen Tieren angetroffen werden können, durch viele und tiefgreifende Differentialcharaktere getrennt werden. Alle diese Parasiten könnten ihrer speziellen Natur zufolge zweckmäßig in eine einzige große Gruppe oder Familie, die der Piroplasmidae, vereinigt werden, die zusammen mit den anderen ähnlichen Familien die Ordnung der Haemosporidia oder Haemocytozoa, d. h. sämtlicher Parasiten der Blutkörperchen, ausmachen würden.

Die Familie der Piroplasmidae würde ihrerseits gebildet durch verschiedene Gattungen, umfassend Parasiten mit identischer Morphologie und demselben Reproduktionsprozeß, und diese würden sich aus ebenso vielen Arten zusammensetzen, wie es Wirtstiere gibt, mit den betreffenden Varietäten.

In bezug auf die Zahl der Gattungen unterscheidet França in seiner allgemeinen Klassifikation der Piroplasmen (1909) fünf: Piroplasma, Theileria, Nicollia, Nuttallia und Smithia. Einige derselben sind jedoch noch nicht gut definiert worden, und zwar wegen der spärlichen Beobachtungen, da es sich namentlich um Parasitenformen von Nicht-Haustieren handelt.

Castellani und Chalmers teilen in ihrem Lehrbuch der Medizin der Tropen (1913) die verschiedenen Piroplasmengattungen in 2 Gruppen ein, nämlich 1) Piroplasmen mit sichtbarem Cytoplasma, 2) Piroplasmen mit gewöhnlich unsichtbarem Cytoplasma; in die erste stellen sie die 5 Gattungen von França, in die zweite das Anaplasma.

Nach meinen diesbezüglichen Beobachtungen glaube ich, daß man unter vorläufiger Beschränkung auf die bekanntesten Piroplasmen, d. h. die in unseren Haustieren schmarotzenden, vor allem die ganze Gruppe oder Familie Piroplasmidae in zwei Haupttypen, den großen Typus oder Bigeminum und den Typus Parvum, einteilen könnte, die sämtliche Parasiten sehr deutlich trennen; dem ersten wäre dann die Gattung Babesia und dem zweiten die Gattungen Nuttallia, Anaplasma und Theileria zuzuweisen.

Diese 4 Gattungen haben folgende Unterscheidungsmerkmale:

Gattung Babesia = Parasiten von großen Dimensionen, rund, oval und vor allem in Birnformen, die sich meist mit den verdünnten Teilen zu zweien in demselben roten Blutkörperchen vereint zeigen. Die Reproduktion, im kreisenden Blut, besteht in einem echten Knospungsprozeß.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 14:39 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Gattung Nuttallia = Parasiten von ziemlich kleinen Dimensionen, rund, oval, birnförmig, bacillär oder einfach granulär mit im allgemeinen, gegenüber der Größe des Parasiten, sehr großer Kernmasse. Der Reproduktionsprozeß erfolgt häufig durch Teilung in vier kreuzweise gestellte Elemente.

Gattung Anaplasma[1]) = Parasiten von geringer Größe in Form von Kokken oder Diplokokken (Granula), bestehend größtenteils aus Chromatin, das sich bisweilen von einem ganz leichten Protoplasmahof konturiert zeigt. Die Reproduktion erfolgt durch Spaltung in 2 Tochterelemente.

Gattung Theileria = sehr kleine parasitäre Elemente, bacillenförmig, in Gestalt kleiner Ringe, oder nur durch ein Chromatinkörnchen gebildet. Der Reproduktionsprozeß ist noch nicht gut aufgeklärt; doch werden in dem kreisenden Blut kreuzweise Anordnungen gesehen. Bei einer Art (Th. parva) sind 2 Generationen angetroffen worden: die eine mit asexuellen, die andere mit sexuellen Elementen.

In nachstehender Tabelle stelle ich die im vorausgehenden angedeuteten Gattungen zusammen und führe dabei die Arten auf, die besonders in unseren Haustieren schmarotzen. Aus dieser Tabelle ist die Stellung ersichtlich, die die zwei Typen des Piroplasma equinum, nämlich die Babesia caballi und die Nuttallia equi einnehmen:

			Arten:
Familie **Piroplasmidae.**	Typus **Bigeminum**	Gattung Babesia (Starcovici 1893)	B. bovis (Babes 1888) B. bigemina (Smith u. Kilborne 1893)[2]) B. ovis (Babes 1892) B. canis (Galli-Valerio 1895) B. caballi (Nuttall 1910)
	Typus **Parvum**	Gattung Nuttallia (França 1909)	N. equi (Laveran 1901; França 1909)
		Gattung Anaplasma (Theiler 1910)	A. bovis A. equi A. canis (Basile 1912) A. ovis
		Gattung Theileria (França u. Borges 1907)	T. annulata (Dschunkowsky u. Luhs 1904) T. parva (Theiler 1904) T. mutans (Theiler 1907)

Schlüsse.

Aus dem vorstehend Dargelegten können wir folgende Schlüsse ableiten:

1) Die Piroplasmosis equina kann durch zwei distinkte Typen von Parasiten gegeben werden: einen von ziemlich kleinen Dimensionen, charakterisiert durch eine eigentümliche Reproduktion in vier kreuzweise

1) Diese neue Gattung, die Theiler im Verfolg seiner zahlreichen Untersuchungen festgestellt hat, und die von vielen Beobachtern angenommen ist, ist jedoch nicht von allen anerkannt. In einer demnächst erscheinenden Veröffentlichung werde ich einige meiner Beobachtungen mitteilen, die die Ansichten von Theiler hinsichtlich der Natur der Anaplasma nicht voll bestätigen werden.

2) Dieses Piroplasma wäre weniger als eine Art für sich, denn als eine Abart der Babesia bovis zu betrachten, ebenso wie Babesia asini (Theiler, 1904), Anaplasma marginale und centrale (Theiler, 1911), Theileria buffeli (Schein, 1908) etc. etc. als Abarten der betreffenden Arten betrachtet werden müßten.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 14:39 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

gestellte Elemente, der Nuttallia equi genannt worden ist; und einen anderen von großen Dimensionen vom Typus der bigeminen Birnen, der sich im kreisenden Blut durch einen echten Sprossungsprozeß vermehrt. Diesem Parasiten ist der Name Babesia caballi gegeben worden.

2) Die zwei oben erwähnten Parasitentypen sind in vielen Gegenden, namentlich der alten Welt, angetroffen worden. Die Nuttallia equi zeigt sich viel verbreiteter als die Babesia caballi.

In Italien kommen beide Typen vor; der erste wird jedoch häufiger beobachtet und hat ein größeres Verteilungsgebiet.

In der Kolonie Erythräa ist bisher nur Babesia caballi beobachtet worden.

3) Bei uns erfreut sich ein großer Teil der einheimischen Pferde eines gewissen Immunitätszustandes, der zwischen dem natürlichen und dem erworbenen in der Mitte steht. Die importierten Pferde dagegen zeigen sich stark empfänglich.

4) Die bei den Pferden durch die oben genannten 2 Parasiten bedingten pathologischen Formen (Nuttalliosis und Babesiosis) zeigen klinisch und pathologisch-anatomisch keine sehr ausgesprochenen Besonderheiten. Einige epizootiologischen Eigenschaften, bezüglich auf besondere zeitliche und örtliche Bedingungen, sind dagegen beiden Typen eigen.

5) Die natürliche Infektion scheint bei uns durch den Rhipicephalus bursa und den Boophilus annulatus übertragen zu werden: letzterer bei der Babesia caballi.

Künstlich ist die Krankheit durch das infizierte Blut übertragbar. Die Fälle, die bei dem Uebertragungsversuch ein negatives Resultat geben, sind auf die Immunität der Tiere, an denen man arbeitet, zurückzuführen.

6) Die einmal an einer bestimmten Piroplasmosisform erkrankten und davon genesenen Pferde werden mehr oder weniger lang immun gegen denselben Typus. Mit Hilfe dieser Immunitätserscheinung können wir die beiden Piroplasmentypen der genannten Tiere vollständig trennen: die bereits gegen Nuttallia equi immunisierten Pferde können die Babesia caballi bekommen und umgekehrt.

Rom, Oktober 1913.

Literatur.

Axe, Notes on tropical biliary fever of the horse or equine piroplasmosis in India. (Journ. of Comp. Path. and Therap. 1906.)
Baldrey, Piroplasmosis in India. (Journ. of Trop. Veterin. Scienc. 1910.)
Balfour, Anaplasmosis in Donkeys. (Journ of Comp. Path. and Therap. 1911.)
—, Piroplasmosis in the Anglo-Egyptian Soudan. (3. Report of the Wellcome Trop. Research Laborat. 1908.)
Baruchello e Mori, Sulla eziologia del cosidetto tifo o febbre petecchiale del cavallo. (Riv. di Artiglieria e Genio. 1905; Ann. d'Ig. sperim. 1906.)
Baruchello e Pricolo, Sull'area geografica della Piroplasmosi equina in Italia. (La Clin. Veterin. 1906.)
—, La Piroplasmosi equina in Sardegna. (Ann. d'Ig. sperim. 1908.)

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 14:39 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

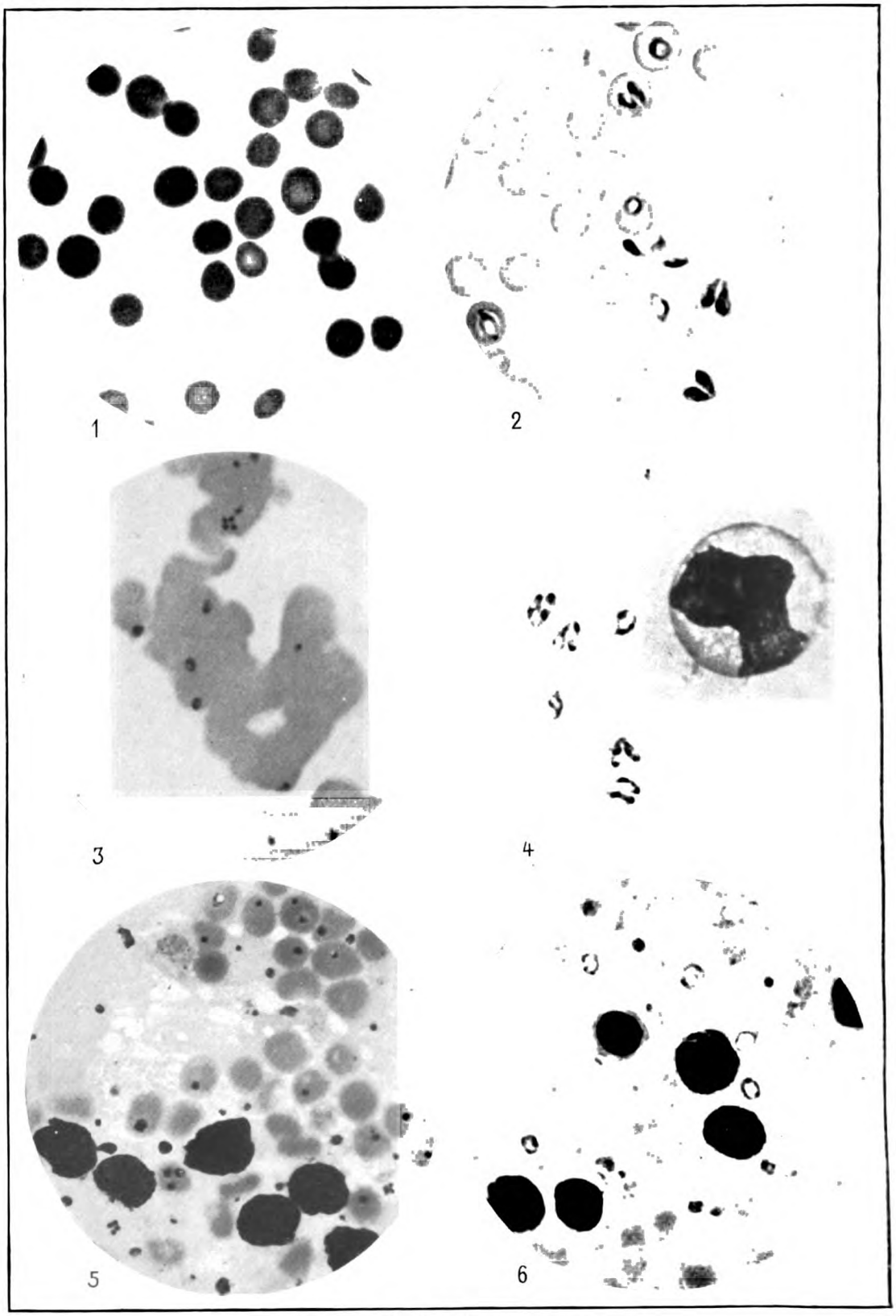
Bielitzer et Marzinowsky, Recherche sur la piroplasmose des chevaux en 1907. (Bull. de l'Inst. Pasteur. 1908.)
Bouet et Roubaud, La piroplasmose (nuttalliose) de l'âne en Afrique occidentale. (Bull. Soc. Path. Exot. 1912.)
Bowhill, Equine Piroplasmosis, or Biliary Fever. (Journ. of Hyg. 1905.)
Carini, Sobre una piroplasmose equina observada em S. Paulo. (Arch. da Soc. de Med. e Chir. de S. Paulo.)
Carpano, L'anaplasmosi nei bovini della Campagna romana. (Moderno Zooiatro. 1912.)
—, La febbre della costa nella Colonia Eritrea. (La Clin. Veterin. 1912.)
Castellani e Chalmers, Manual of Tropical Medicine. London 1913.
Dale, Piroplasmosis in the donkey. (Journ. of Comp. Path. and Therap. 1903.)
Doflein, Lehrbuch der Protozoenkunde. Jena 1909.
Dschunkowsky et Luhs, Les maladies à protozoaires des animaux domestiques en Transcaucasie. (Compt. rend. du IX. Congr. Internat. de Méd. vétérin. La Haye 1909.)
Eassie, Some observations on tropical biliary fever. (Journ. of Comp. Path. and Therap. 1905.)
Edington, Biliary fever in the horse. (Journ. of Comp. Path. and Therap. 1905.)
França, Sur la classification des Piroplasmes et description de deux formes de ces parasites. (Arch. Inst. Bact. Camera Pestana. 1909.)
Guglielmi, Un caso di malaria nel cavallo. (La Clin. Veterin. 1899.)
—, Un altro caso di malaria del cavallo ed ipotesi sul mezzo di trasmissione. (Ibid. 1903.)
Jolliffe, Some remarks on equine biliary fever in India. (Journ. of Trop. Veterin. Scienc. 1907.)
Koch, Rhodesian Investigations. (Cape Agricolt. Journ. 1904.)
—, Vorläufige Mitteilungen über die Ergebnisse einer Forschungsreise nach Ostafrika. (Dtsche med. Wochenschr. 1905.)
Kovalewsky, Deux cas intéressants de Piroplasmose du cheval. (Journ. de Méd. Vétér. 1912.)
Lafargue, Lussault et Savary, Enzootie de piroplasmose equine dans la Chaonia. (Rev. gén. de Méd. Vétér. 1908.)
Lanfranchi, Contributo allo studio della malaria cronica nel cavallo. (Moderno Zooiatro. 1908.)
Laveran, Contribution à l'étude du Piroplasma equi. (Soc. de Biol. 1901.)
—, Haemocytozoa. Essai de classification. (Bull. Inst. Pasteur. 1905.)
Lingard and Jennings, A preliminary note on piroplasmosis found in man and in some of the lower animals. (Ind. Med. Gaz. 1904.)
Martoglio, Stella e Carpano, Contributo alla conoscenza ed alla classifica dei Piroplasmi. (Ann. d'Ig. sperim. 1911.)
Marzinowsky, Ueber die Züchtung von Piroplasma equi. (Zeitschr. f. Hyg. 1909.)
Marzinowsky u. Bielitzer, Piroplasmose des Pferdes in Rußland und Rolle der Zecke Dermacentor reticulatus bei ihrer Verbreitung. (Zeitschr. f. Hyg. 1909.)
Nuttall u. Strickland, Die Parasiten der Pferdepiroplasmose resp. der Biliary Fever. [Vorl. Mitt.] (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. 56. 1910. p. 524.)
—, On the occurrence of two species of parasites in Equine Piroplasmosis or Biliary Fever. (Parasitology. 1912.)
Perrucci, Osservazioni sulla malaria equina. (La Clin. Veterin. 1907.)
—, Studî ematologici sulla Piroplasmosi equina. (Moderno Zooiatro. 1909.)
Piot-Bey, Piroplasmose équine. (Compt. rend. du IX. Congr. Intern. de Méd. vétérin. La Haye 1909.)
Pricolo, La Piroplasmosi equina. (La Clin. Veterin. 1912.)
Roger, Un forme de Piroplasmose équine vue en Algérie. (Journ. de Méd. vétérin. 1906.)
Russi, Atti del V. Congr. d. Federaz. Veterin. Ital. Torino 1902.
Schein, Piroplasmose du cheval dans le sud Annam. (Bull. Soc. Path. Exot. 1911.)
Stazzi, Un caso di Piroplasmosi cronica (malaria cronica) nel cavallo. (La Clin. Veterin. 1907.)
Theiler, Equine malaria and its sequelae. (Journ. of Comp. Path. and Therap. 1902.)
—, Maladies des tropeaux dans l'Afrique du Sud. (Bull. Inst. Pasteur. 1905.)
—, Transmission of equine piroplasmosis by ticks in south Africa. (Journ. of Comp. Path. and Therap. 1906.)
—, Continuation of Experiments on Protective Inoculation against Equine Piroplasmosis. (Ibid. 1908.)

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 14:39 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Generated on 2019-09-15 14:39 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Digitized by Google

Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN



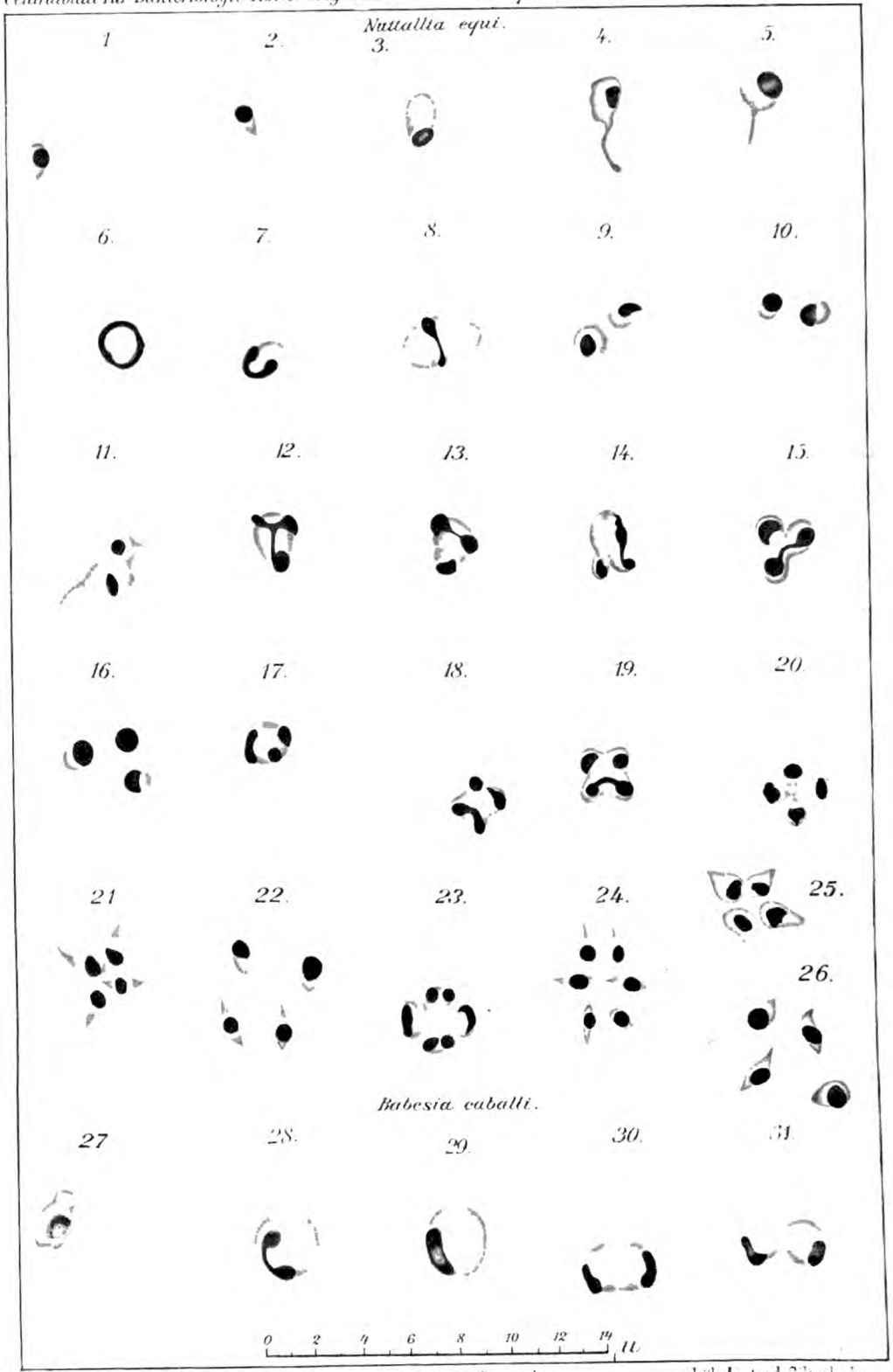
Verlag von **Gustav Fischer** in **Jena.**

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 14:39 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Generated on 2019-09-15 14:39 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Digitized by Google

Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN



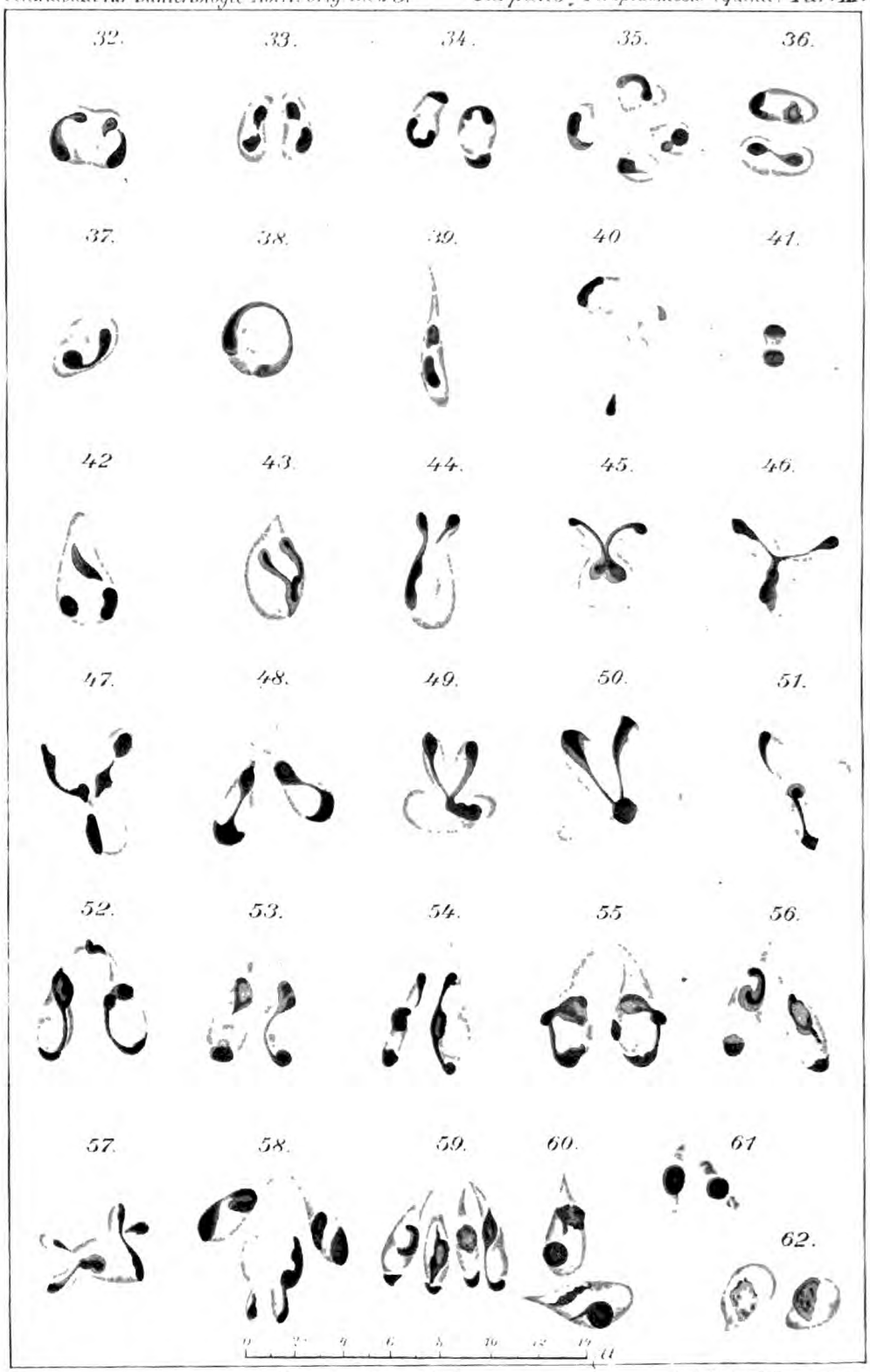
Dr. M. Carpano dis. Verlag von Gustav Fischer in Jena. Lith. Anst. v. A. Giltsch, Jena

Generated on 2019-09-15 14:39 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-15 14:39 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Digitized by Google

Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN



Dr. M. Carpano dir. Verlag von Gustav Fischer in Jena Lith. Anst. v. A. Giltsch, Jena

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 14:39 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Theiler, The Anaplasmosis of Cattle. Report of the Governm. Veter. Bact. (Transvaal Dep. of Agric. Pretoria 1910.)
—, Das Trypanblau und Trypanrot in der Behandlung der Piroplasmosen und deren praktische und theoretische Bedeutung. (Zeitschr. f. Infektionskrankh. d. Haustiere. 1912.)
Thiroux, Note sur l'existence de la Piroplasmose du cheval à Madagascar. (Compt. Rend. de la Soc. de Biol. 1903.)
Williams, Indian equine Piroplasmosis. (Journ. of Comp. Path. and Therap. 1907.)
Ziemann, Vorläufiger Bericht über das Vorkommen der Tsetsekrankheit im Küstengebiete von Kamerun und weiteres über die Tsetsekrankheit sowie über Tiermalaria. (Dtsche med. Wochenschr. 1903.)

Erklärung der Abbildungen.

Tafel I.

Reproduktion von Mikrophotographieen des Verf. Durchweg 1400-fache Vergrößerung.

Typus Parvum (Nuttallia equi): Fig. 1, 3 und 5.

Fig. 1. Zirkulierendes Blut. Färbung mit Giemsascher Lösung.
Fig. 3. Herzblut. Dieselbe Färbung.
Fig. 5. Knochenmark. Dieselbe Färbung.

Typus Bigeminum (Babesia caballi): Fig. 2, 4 und 6.

Fig. 2. Zirkulierendes Blut. Färbung nach Romanowsky.
Fig. 4. Herzblut. Färbung mit Giemsascher Lösung.
Fig. 6. Knochenmark. Färbung mit Giemsascher Lösung.

Tafel II und III.

Die verschiedenen Abbildungen auf diesen Tafeln sind vom Verf. direkt unter dem Mikroskop nach vielen Blutpräparaten und Präparaten von verschiedenen Geweben gezeichnet. Farbung größtenteils nach dem etwas modifizierten Verfahren von Romanowsky.

Die Vergrößerung ist eine einzige und wird angezeigt durch die unten stehende Skala.

Typus Parvum (Nuttallia equi): Fig. 1—26.

Fig. 1—8. Verschiedene einfache Elemente.
Fig. 9—11. Reproduktion in 2 Elemente.
Fig 12—16. Reproduktion in 3 Elemente.
Fig. 17—22. Reproduktion in vier kreuzweise gestellte Elemente.
Fig. 23 und 24. Multiple Reproduktion.
Fig. 25 und 26. Freie Elemente im Blutplasma.

Typus Bigeminum (Babesia caballi): Fig. 27—62.

Fig. 27—36. Reproduktion durch direkte Teilung, vorherrschend in den inneren Organen.
Fig. 37—42. Verschiedene einfache Formen (rund, oval, amöboid, birnartig).
Fig. 43—52. Reproduktion in 2 Elemente durch Knospung.
Fig. 53—56. Verschiedene bigemine Formen.
Fig. 57—59. Reproduktion in 4 Elemente in demselben roten Blutkörperchen.
Fig. 60—62. Freie bigemine Formen im Blutplasma.

Generated on 2019-09-15 14:39 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Nachdruck verboten.

Kultur der Pferdepiroplasmen und Betrachtung über die Natur der Anaplasmen.

[Aus dem militär-tierärztlichen bakteriologischen Laboratorium zu Rom.]

Von Dr. **Matteo Carpano.**

Mit 1 Tafel.

Die zahlreichen Versuche über Piroplasmenkultivierung haben im allgemeinen negative, unkonstante und oft untereinander nicht übereinstimmende Resultate geliefert.

Im großen und ganzen haben sie uns weniger eine echte Kultur, als eine bloße Konservierung des fraglichen Hämocytozoon gegeben.

Als Nährböden sind verschiedenartige Substrate verwendet worden mit Einschluß der einfachen Bouillon, einiger an Hämoglobin reicher Medien und des parasitenhaltigen Blutes selbst.

Lignières soll es 1900 unter großen Schwierigkeiten und nicht immer gelungen sein, die Babesia bovis auf stark hämoglobinhaltigem Serum bei 37° zu kultivieren.

Kleine hat 1906 die Züchtung der Babesia canis derart versucht, daß er das kurz vor dem Tode entnommene parasitenführende und defibrinierte Blut mit demselben Volumen physiologischer Kochsalzlösung verdünnte und bei 27° hielt Dabei konnte er beobachten, daß das so behandelte Piroplasma nach ganz kurzer Zeit morphologischen Veränderungen entgegengeht und sich in Elemente verwandelt, die den von Koch bei der Entwickelung der Babesia bigemina in den Zecken beschriebenen nahegerückt werden können. Derselbe Forscher hat keine echte Vermehrung beobachten können, noch konnte er wegen der degenerativen Vorgänge seine Untersuchungen über den 3. Tag hinaus ausdehnen.

Die Versuche von Kleine sind zum großen Teil durch Nuttall und Graham-Smith bestätigt worden.

Miyajima versuchte im Jahre 1907 die Züchtung der Theileria parva in gewöhnlicher Bouillon, wobei er diese mit parasitenhaltigem Blut, im Verhältnis von 5—10 Teilen Bouillon auf 1 Teil Blut, vermischte und die Röhren auf eine Temperatur von 20—30° brachte. In dieser Kultur hatte er nach einiger Zeit das Auftreten von Trypanosomenformen verzeichnet, die als Entwickelungsstadien der Piroplasmen aufgefaßt wurden.

Die gleichen Versuche aber, die 1909 von Martini, Nuttall, Graham-Smith ausgeführt wurden, stellten sicher, daß die von Miyajima in den Kulturen gesehenen Geißelformen in dem für die Kultur selbst verwendeten Blut präexistierten und es wegen ihrer spärlichen Anzahl nicht möglich gewesen war, sie vorher nachzuweisen.

Nuttall und Graham-Smith versuchten im Jahre 1908 die Kultivierung der Babesia canis, indem sie defibriniertes parasitenhaltiges Blut, zu gleichen Teilen mit physiologischem Serum vermischt, in folgende Lösung gossen.

Dest. Wasser	100 ccm
Natriumchlorid	0,95 g
Kaliumchlorid	0,025 „

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 14:39 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Calciumchlorid	0,02	g
Natriumkarbonat	0,15	„
Dextrose	0,1	„

In dieser Kultur sahen die Forscher große unregelmäßige, endoglobuläre Formen mit Kernmassen, die dünne, häufig über die Kontur der roten Blutkörperchen hinausgehende Fortsätze aussandten. Ueber die Natur der genannten Formen haben sich Nuttall und Graham-Smith nicht ausgesprochen.

Ueber denselben Gegenstand und stets an Babesia canis hat Deseler im Jahre 1910 bei seinen Züchtungsversuchen die gleichen strahlenförmigen Formen wie die vorgenannten englischen Autoren beobachtet. Jedoch verzeichnete er, daß die Fortsätze nie über die Grenzen der Erythrocyten hinausgingen und in ganz kurzer Zeit verschwanden. Wie Kleine und Nuttall und Graham-Smith war es ihm nie gelungen, in diesen Formen einen wahren Vermehrungsprozeß zu sehen.

Marzinowsky versuchte 1909 die Kultur des Piroplasma equi (Babesia caballi) in Natriumcitratlösung. In sterilisierte, 1—2 ccm einer 10-proz. Natriumcitratlösung enthaltende Röhren brachte er 10 ccm parasitenhaltiges Blut, das er bei 37° oder Zimmertemperatur stehen ließ. Nach 2—3 Tagen bemerkte er eine Vermehrung der Parasiten und das Auftreten von sternartigen Formen mit sukzessiver Bildung von kleinen Elementen mit voluminösem Kern vom Typus der Malariamerozoiten, ohne jedoch feststellen zu können, ob letztere von den ersteren abstammten. Außerdem hat er Versuche der Wiederaussaat angestellt, die bis zur 3. Passage gelang; in den letzten Kulturen jedoch erhielt er nur ganz kleine Formen.

Da ich parasitenführendes Blut sowohl mit Babesia caballi wie mit Nutallia equi zu meiner Verfügung hatte, habe ich ebenfalls die Kulturproben versuchen wollen.

Als Nährsubstrat verwendete ich viele feste und flüssige Medien mit Einschluß der von meinen Vorgängern benutzten; jedoch entsprachen sie recht wenig dem Zweck, vor allem deshalb, weil viele von ihnen hämolysierend auf das Blut wirkten, was für die Beobachtung hinderlich war und gleichzeitig die Reproduktion des Parasiten hintanhielt.

Nach vielen Versuchen bin ich bei einer gemischten Lösung von reinstem Natriumchlorid und Natriumcitrat geblieben, d. h. bei derselben, die ich normalerweise für das Studium und die Konservierung der Protozoen verwende:

Dest. Wasser	100	ccm
Natriumchlorid	7	g
Natriumcitrat	7	„

Die von mir benutzte Technik ist folgende:

Ich richte Reagensgläser mit 1 ccm der angegebenen Lösung her, die ich sorgfältig sterilisiere. In diese Reagensgläser gieße ich ca. 9 ccm Blut, das aseptisch aus der Jugularis erkrankter Pferde extrahiert wurde und sofort defibriniert und im Eisschrank aufbewahrt wird, wenn die Aussaat nicht gleich stattfindet. Ist das Blut zur Verhütung von Verunreinigungen mit aller Sorgfalt eingegossen, dann werden die Reagensgläser geschüttelt und bei ca. 25° in den Brutschrank gestellt. Nach 24 Stunden klärt sich der Inhalt, der zuerst gleichmäßig gefärbt war, auf; die Formelemente des Blutes setzen sich auf dem Boden ab, wäh-

Generated on 2019-09-15 14:39 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

rend darüber sich der flüssige Teil sammelt, der je nach der gelösten Hämoglobinmenge eine etwas wechselnde Farbe hat: hellgelb bis safrangelb oder rötlich-gelb. Diese in der ersten Zeit der Kultur helle Flüssigkeit wird in den folgenden Tagen allmählich und mehr oder weniger rasch dunkler, bis sie durch die vollständige Hämolyse der roten Blutkörperchen eine dunkel rubinrote Farbe annimmt.

Die Entnahme des Materials für die Untersuchung geschieht durch langsames Einführen einer sehr feinspitzigen sterilen Pipette, deren oberes Ende durch die Kuppe des Zeigefingers verschlossen gehalten wird, in die Kultur, bis die Spitze selbst die Lage der roten Blutkörperchen berührt. Dann wird der Finger leicht von der oberen Oeffnung abgehoben und in die Pipette eine ca. 1 cm hohe Blutsäule eintreten gelassen, was für die Herstellung der Ausstriche und die Beobachtungen in frischem Zustand hinreichend ist.

Mit demselben parasitenhaltigen Blut müssen verschiedene Röhren beschickt werden, da die Kulturen durch die wiederholten Entnahmen leicht verunreinigt und unbrauchbar werden.

Beschreibung der Parasiten in den Kulturen.

Die beiden mit dem Blut, in dem sie leben, in die vorerwähnte Lösung eingesäten Piroplasmentypen der Pferde verhalten sich nicht in derselben Weise. Ich muß daher die Kulturen der Babesia caballi von denen der Nuttallia equi unterscheiden.

Die betreffenden Beobachtungen sind an verschiedenartig fixierten und mit Chromatinlösungen gefärbten Ausstrichen und an frischen Präparaten unter Benutzung der direkten und der schräg einfallenden Beleuchtung (auf dunklem Grund) ausgeführt worden.

Kultur der Babesia caballi (Fig. 1—10).

Die Parasitenelemente vom Typus Bigeminum haben in den von mir versuchten Kulturen keine zweifellosen Zeichen der Vermehrung aufgewiesen. Eine Zeitlang bewahren sie ihre Vitalität, wobei sie sich allmählich verwandeln und in besondere Formen übergehen, die morphologisch den von mir in dem Magen der auf babesiosiskranken Pferden gesammelten weiblichen Zecken (Boophilus annulatus) angetroffenen und den von Koch in den das Texasfieber und das Küstenfieber übertragenden Ektoparasiten und von Kleine in den Kulturen der Babesia canis beschriebenen nahegerückt werden können.

Ungefähr 48 Stunden nach der Aussaat werden viele endoglobuläre birnförmige Elemente frei, wobei sie im großen und ganzen die ursprüngliche Form beibehalten. In ihnen wird jedoch eine merkliche Differenzierung der Kernmassen verzeichnet. Während sich in einigen der Kern auf eine kleine sehr kompakte und somit intensiv färbbare Chromatinmasse reduziert (Fig. 3), ist in anderen der Kern ziemlich groß, rundlich, nicht sehr dicht und läßt im Innern eine aus einem Reticulum und Chromatingranulationen (Chromosomen) zusammengesetzte Struktur erkennen (Fig. 4).

Gegen den 5.—8. Tag treten die sternartigen Formen auf, deren Fortsätze oder Strahlen in verschiedener Anzahl rings um den Parasiten oder bloß an einem Teil allein entspringen können (Fig. 5 u. 6). Diese Fortsätze sind im allgemeinen gerade, nach Art von Stacheln, verschieden lang und bestehen bei einigen Elementen allein aus Cytoplasma (Fig. 7),

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 14:39 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

bei anderen sind es echte Ausstrahlungen des Kernes und nehmen deshalb die Chromatinfärbung an (Fig. 5 u. 6).

Gleichzeitig mit den Sternformen werden große, rundliche Elemente wahrgenommen, bestehend großenteils aus ziemlich schwach färbbarem Protoplasma und aus einem kleinen kompakten, abgeplatteten, gegen die Peripherie des Parasiten gerückten Kern (Fig. 8).

Späterhin, gegen den 10.—15. Tag, sind große, unregelmäßige Parasiten in den Dimensionen von 4—8 μ ziemlich gewöhnlich. Sie bestehen aus nicht gleichmäßigem, vakuolisiertem Protoplasma und zwei Chromatinkernen, einem großen von rundlicher oder unregelmäßiger Gestalt und einem kleineren, häufig fadenförmigen, der in geringer Entfernung von dem ersten liegt (Fig. 9 u. 10).

Nach dem 15. Tag erleiden die so beschriebenen Parasiten noch verschiedene Zeitlang keine weitere Veränderung, dann degenerieren sie allmählich in dem Maße, wie der Boden altert und die Hämolyse eine vollständige wird.

In bezug auf die Bedeutung dieser verschiedenen in der Kultur der Babesia caballi angetroffenen Elemente besteht kein Zweifel darüber, daß sie sexuell differenzierte und wahrscheinlich bereits kopulierte Formen des oben genannten Parasiten darstellen müssen.

Kultur der Nutallia equi (Fig. 11—30).

Die Nuttallia equi erhält sich in der Blut-Natriumchlorid-Natriumcitratkultur nicht nur lange Zeit vital, sondern erwirbt eine spezielle Morphologie und vermehrt sich sichtbar.

Hier können wir daher im Unterschiede zur Babesia caballi von echter Kultivierung reden.

In den ersten 48 Stunden nach der Aussaat zeigen sich die gewöhnlichen Piroplasmenformen des zirkulierenden Blutes bereits verändert. Die großen und mittelgroßen Elemente verschwinden fast vollständig, ebenso werden die kreuzartigen Formen äußerst selten.

Die Parasiten, die beobachtet werden, sind im allgemeinen klein, mit reichlichem Chromatin, ja einige scheinen ausschließlich aus dieser Substanz zu bestehen.

Der Reproduktionsprozeß ist die direkte Teilung. Es werden Elemente gesehen, deren Kern bereits geteilt ist und dessen einzelne Teile noch durch einen Chromatinfaden verbunden bleiben (Fig. 11); andere, in denen die beiden Tochterkerne sich bereits getrennt haben, und noch andere, in denen das Protoplasma, der Kernteilung folgend, sich bereits in zwei Teile geteilt hat.

In dem nämlichen roten Blutkörperchen werden 1, 2, 3 und selten 4 Parasiten angetroffen (Fig. 12, 13 u. 14). In letzterem Fall sind sie äußerst klein und zumeist im Viereck angeordnet, und zwar in einer Entfernung voneinander, daß sie an die klassische Anordnung in Kreuzform erinnern (Fig. 14).

Außer den endoglobulären Formen werden mit einer gewissen Häufigkeit auch freie wahrgenommen. Diese haben meist ein rundliches Aussehen und sind mit 1 oder 2 Kernmassen versehen (Fig. 15).

Gegen den 3.—4. Tag ist die Morphologie nicht sehr verändert. Die Parasiten sind noch mehr verkleinert und an den intraglobulären wird die Tendenz wahrgenommen, sich gegen die Peripherie der Erythrocyten zu verschieben (Fig. 16).

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 14:39 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Die Reproduktionserscheinungen sind sehr in die Augen fallend (Fig. 17, 18 u. 19).

Die freien Formen (Fig. 20) sind ziemlich zahlreich.

In dieser Periode scheinen die Parasiten im allgemeinen an Zahl vermehrt.

Am 6.—8. Tag werden in den Kulturen ganz kleine Formen in Gestalt von Körnern (Fig. 21), kleinen Ringchen (Fig. 22) oder von bacillärem Aussehen (Fig. 23) beobachtet, die wegen ihrer Kleinheit kaum zu unterscheiden sind.

Die wichtigste Erscheinung jedoch ist die Bildung, ungefähr in dieser Zeit, von Elementen, die ebenso aussehen wie die anaplasmatischen Formen von Theiler (Anaplasma marginale).

Diese Parasiten werden in einer Zahl von 1—2 Elementen in demselben roten Blutkörperchen, kaum in größerer Menge, angetroffen, und zwar verschieden angeordnet, meist aber dem Rand des Erythrocyten genähert oder an ihm haftend.

Diese Formen haben verschiedene Dimensionen, im allgemeinen von 0,5—1,5 μ, sind von rundlichem, ovalem oder diplokokkenartigem Aussehen und bestehen aus einem großen Chromatinkern, der umgeben ist von einem nicht immer gut sichtbaren Protoplasmahof (Fig. 24—30).

In frischem Zustand beobachtet, zeigen sich diese Parasiten als kleine, etwas lichtbrechende Scheibchen, die eher an der Oberfläche des roten Blutkörperchens zu hängen als in dessen Innerm zu liegen scheinen.

An den gefärbten Präparaten ist es möglich, sämtliche Phasen der Reproduktion wahrzunehmen, die durch einfache Teilung erfolgt; der dicke Kern streckt sich etwas, um sich dann in seiner Mitte zu teilen. In diesem Moment kann der Parasit das Aussehen einer doppelten Kaffeebohne annehmen (Fig. 25). Schließlich runden sich die beiden Kernmassen ab (Fig. 26), bleiben eine Zeitlang in Kontakt (Fig. 27) und trennen sich dann vollständig, eine Spur Protoplasma nachziehend (Fig. 28).

Die so entstandenen neuen Elemente scheinen nach einiger Zeit das Wirtsblutkörperchen zu verlassen oder durch den Zerfall des Erythrocyten in Freiheit zu treten. In der Hinsicht lassen sich Formen beobachten, die deutlich diese Art Parasitenausscheidung zeigen (Fig. 29), ebenso wie es andererseits möglich ist, an dem äußeren Rand neuer Erythrocyten haftende Parasiten zu sehen, die als wahrscheinliches Eindringen aufgefaßt werden müssen.

Außer den endoglobulären Elementen werden viele andere frei im verdünnten Plasma bemerkt, die sich fast identisch mit den in den vorausgehenden Tagen beschriebenen erweisen (Fig. 30). Bei Beobachtung in frischem Zustand zeigen einige von diesen Formen eine sichtbare Bewegung.

Sukzessiv nehmen die Parasiten noch an Zahl zu, wobei sie sich fast ausschließlich auf die anaplasmatische Form reduzieren, und dies bis gegen den 20.—30. Tag der Kultur, d. h. bis das Blut vollständig hämolysiert ist.

Aus den genannten Kulturen, und zwar besonders aus den jungen in voller Entwickelung befindlichen, habe ich versucht, Passagen in neue Röhren mit defibriniertem Pferbeblut, in demselben Verhältnis wie bei den ursprünglichen Kulturen mit Natriumchlorid und -citratlösung gemischt, auszuführen. Die Resultate waren nicht sehr günstig, da ich auf verschiedene Proben nur einen positiven Fall erhielt; und auch in diesem

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 14:39 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

günstigen Fall schien mir die Parasitenentwickelung sehr kümmerlich. Zweifellos kann das Element Blut wegen seiner besonderen Immunitätseigenschaften, die es besitzen kann, nicht ganz bedeutungslos sein, wenn es als Nährsubstrat bei diesen Kulturversuchen verwendet wird.

Anaplasmatische Formen im Pferd.

Die oben beschriebenen anaplasmatischen Formen in den Kulturen der Nuttallia equi sind von mir hier in Italien vielmals auch bei piroplasmosiskranken Pferden (Nuttalliosis) beobachtet worden.

Mikroskopische Untersuchungen im frischen Zustand und an gefärbten Ausstrichen von Blut, das Pferden bei bereits vorgerückter Krankheit, auf dem Wege zur Heilung begriffenen oder schon genesenen Pferden entnommen wurde, wiesen öfters solche Elemente in Gestalt von Kokken oder Diplokokken, fast einzig aus Chromatin bestehend, in Einzahl, Zweizahl und selten zu dreien oder vier im Innern der roten Blutkörperchen liegend, und meist gegen die Peripherie gerückt, nach.

Die genannten Parasitenformen habe ich nicht nur mit den gewöhnlichen, mehr oder weniger zahlreichen Elementen der Nuttallia equi untermischt, sondern auch in reinem Zustande angetroffen, so daß ich während der Beobachtungen den Eindruck erhielt, vor einem Präparat von Anaplasma marginale der Rinder zu stehen.

Diese Formen können häufig, in beschränkter Anzahl, auch lange Zeit nach erfolgter Heilung gesehen werden.

Sie sind deshalb nicht nur in den Kulturen auffindbare Elemente, sondern können mit derselben Morphologie auch in den an Nuttalliosis leidenden Pferden beobachtet werden und zwar im vorgeschrittenen Verlauf der Krankheit und nach erfolgter Heilung.

Ueber die Natur des Anaplasma.

Diese speziellen intraglobulären Körper (coccus-like bodies, marginal points etc.) wurden zuerst von Smith und Kilborne im Jahre 1893 beobachtet, die sie, da sie von ihnen in den Fällen von Texasfieber konstatiert worden waren, als Stadien des Lebenszyklus der Babesia bigemina auffaßten.

Späterhin trafen Kolle und Turner im Jahre 1898 dieselben Formen in pest- und piroplasmosiskranken Rindern in Südafrika und betrachteten sie als junge Piroplasma-Elemente. Die gleiche Deutung gab Brauer von denselben Körpern, die er in an Texasfieber erkrankten Rindern in Ostafrika auffand.

In der Folge wurden diese intraglobulären Elemente von Lignières (1900) bei der Tristeza oder Rindermalaria der Republik Argentinien verzeichnet, von Dschunkowsky und Luhs (1904) bei der Piroplasmosis (kachektischer Typus der Theileria annulata) derselben Tiere in Transkaukasien, von Knuth (1905) in den Rindern von La Plata, immer während der Piroplasma-Infektionen.

Theiler hat von 1905 an durch eine zahlreiche Reihe von Versuchen festgestellt:

1) Die marginalen Punkte (kokkenförmige Körper von Smith und Kilborne) stellen eine neue Gattung von Protozoen dar, der er den Namen Anaplasma gibt, Art: marginale, mit einer Abart: centrale.

2) Die genannten Parasiten bedingen einen besonderen pathologischen Zustand, die Febris malariaformis von Kolle, die in Transvaal

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 14:39 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

unter dem Namen Galziekte oder Gall-sickness geht und häufig mit der Babesia bigemina oder anderen Piroplasmenformen gemischt verläuft.

3) Die Infektion wird mit einer langen Inkubationsperiode auf natürlichem Wege durch die Zecken Boophilus decoloratus und Rhipicephalus suinus übertragen, die auch die Babesia bigemina einimpfen können: in letzterem Fall zeigt sich die Babesia infolge ihrer kürzeren Inkubation viel eher im kreisenden Blut als das Anaplasma.

4) Die die Uebertragung vermittelnden Zecken können infektiös werden, auch wenn sie gegen die Piroplasmosis und die Anaplasmosis immunisierten Tieren entnommen wurden.

5) Das Anaplasma kann in reinem Zustand sowohl durch Zecken wie auch durch Impfung mit infiziertem Blut übertragen werden.

6) Mit Hilfe von gekreuzten Immunitätserscheinungen läßt sich die Piroplasmosis scharf von der Anaplasmosis trennen.

Neben den Theilerschen Arbeiten besitzen wir viele andere Veröffentlichungen über denselben Gegenstand. Sieber (1909) studiert das Anaplasma besonders unter dem morphologischen Gesichtspunkt und betrachtet es als ein Chlamydozoon im Sinne Prowazeks; Lichtenheld (1910) teilt Beobachtungen über denselben Parasiten bei den Rindern Ostafrikas mit; Balfour (1910) findet anaplasmatische Formen in einem an Piroplasma equi leidenden Esel des Sudan; Koidzumi (1912) beobachtet es im Vieh der Insel Formosa, untermischt mit Babesia bigemina, wobei er Uebergangsformen zwischen den beiden Parasiten antrifft; Basile (1912) findet es beim Hund in der Umgebung von Messina und es gelingt ihm seine Uebertragung durch infiziertes Blut; Schellhose (1912) sieht denselben Parasiten in den Hammeln von Deutsch-Ostafrika, wo es auch von Bevan (1912) in denselben Tieren beobachtet wird. Schließlich sieht Theiler im Jahre 1912 Anaplasmen in an Nuttallia leidenden Pferden nach Behandlung mit Trypanblau auftreten.

Nachdem ich diese Parasitenformen bereits 1904 in den Rindern der Kolonie Erythräa während der Arbeiten zur Bekämpfung der Rinderpest beobachtet hatte, traf ich sie zum ersten Male bei uns in der römischen Campagna, wo, wie bekannt, enzootisch auch die Babesia bovis vorkommt.

Welches sind die Anschauungen über die Natur dieser speziellen endoglobulären Körper? Wie wir haben sehen können, gehen darüber die Ansichten der verschiedenen Beobachter auseinander.

Nach den Arbeiten Theilers haben einige Autoren, auf eigene Untersuchungen hin, dessen Anschauungen voll und ganz akzeptiert; unter diesen erwähne ich Sieber, Lichtenheld, Gonder usw. Andere Autoren wie Ollwig, Manteufel, Morris, Jowett, Dodd, Koidzumi usw. sind nicht derselben Meinung. Für einige der letzteren stellen die marginalen Punkte weiter nichts als Alterationsprodukte der roten Blutkörperchen oder Ueberreste der Kernkörper der roten Blutkörperchen dar, die auch in gesunden Tieren aufgefunden werden könnten[1]); von den anderen werden sie als Entwickelungsstadien ver-

1) Nicht sämtliche endoglobulären, kokkenförmigen Körper können auf diese Weise betrachtet werden. Vielmehr habe auch ich in Föten verschiedener Tiere, in jungen Ratten und in einem an schwerer Rachitis leidendem Hund diese Einschlüsse angetroffen. — Sie unterscheiden sich aber morphologisch von den echten parasitären

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 14:39 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

schiedener Piroplasmen (junge Formen der Theileria parva, annulata und mutans, schizogonische Formen der Babesia bigemina, Encystierungsformen etc.) betrachtet.

Aus dem Dargelegten ersieht man klar, daß die wahre Natur der marginalen Punkte noch sehr umstritten ist und heute noch der Aufklärung harrt.

Indessen ergibt sich aus den oben aufgeführten Studien und Beobachtungen im ganzen folgendes:

1) Die Anaplasmen werden im allgemeinen in Tieren aufgefunden, die die verschiedenen Piroplasmosisformen bekommen können und an Orten, wo diese am meisten enzootisch herrschen.

2) Sie werden fast stets in den Rindern während der Piroplasmosisinfektionen beobachtet und zwar nach der ersten Periode der Infektionen selbst, d. h. wenn die Piroplasmen teilweise oder ganz aus dem kreisenden Blut verschwunden sind.

3) Die das Anaplasma übertragenden Ektoparasiten wären dieselben wie bei der Piroplasmosis (Theiler).

4) Die auf bereits gegen die Anaplasmosis und die Piroplasmosis immunisierten Rindern gesammelten Zecken können die erste oder beide Affektionen auf neue für dieselben Krankheiten empfängliche Tiere übertragen (Theiler).

5) Das nur anaplasmatische Formen enthaltende Blut kann, in andere Rinder eingeimpft, das Anaplasma allein reproduzieren (Theiler), es kann aber auch, wenn die Tiere für die Piroplasmosis empfänglich sind, zu einer Piroplasmeninfektion führen (Koidzumi).

6) An Nuttalliosis leidende Pferde lassen bei Behandlung mit Trypanblau Anaplasmen im kreisenden Blute sehen (Theiler).

7) In den Rindern ist es möglich, Uebergangsformen zwischen Babesia bigemina und Anaplasma zu beobachten (Koidzumi).

Meine speziellen Beobachtungen an der Kultur der Nuttallia equi und an mit demselben Protozoon infizierten Pferden haben, wie wir sahen, zu folgenden Schlüssen geführt:

1) In den Kulturen mit durch Nuttallia infiziertem Blut werden nach einigen Tagen parasitäre Formen mit anaplasmatischer Struktur und Reproduktion sichtbar.

2) Dieselben Formen können in nuttalliosiskranken Pferden in einer vorgeschrittenen Periode der Krankheit oder wenn diese sich zur Heilung wendet oder nach erfolgter Heilung beobachtet werden.

Wie können wir die letzteren zwei Erscheinungen im Hinblick auf die Natur des Anaplasma erklären?

Wenn auch die gewöhnlichen toten Kulturböden im allgemeinen als gute Nährsubstrate für die vielen Schizomyceten betrachtet werden, so können wir doch nicht das gleiche für die Protozoen sagen. Die Mehrzahl dieser Mikroorganismen hat hinsichlich ihrer Ansprüche sehr enge Toleranzgrenzen; es genügt ein geringes Manko, um gleich darunter zu leiden.

Mit dem ungeeigneten Milieu, das wir mit den Kulturen schaffen, in denen sie nicht sämtliche Nährstoffe, deren sie bedürfen, finden können, verbindet sich auch der Uebelstand der Anhäufung der Stoff-

Formen vor allem durch das konstante Fehlen jeglicher Spur von protoplasmatischer Substanz.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 14:43 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

wechselprodukte in den Kulturen selbst, die auf die Dauer nicht ganz ohne Einfluß auf das Leben der Mikroorganismen selbst bleiben können.

Einige Protozoen endigen, wenn sie in diese Bedingungen gesetzt werden, häufig damit, daß sie entarten und absterben. Andere dagegen passen sich zum Teil dem neuen Milieu an; in diesem Fall aber verändern sie fast stets ihre Formen und ihre funktionellen Tätigkeiten, wodurch sie für die neuen Ansprüche geeigneter werden. Diese Veränderungen sind von verschiedener Art und von verschiedener Intensität und können bis zur Bildung spezieller Elemente gehen, die dann zum großen Teil Dauerformen sind (sexuelle Formen, Enkystierungsformen etc.).

Die Nuttallia equi, zur Kultur in physiologische Kochsalzlösung mit Zusatz von Natriumcitrat gebracht, findet hier nicht alle Bedingungen für ihr gewöhnliches Leben und, obwohl sie nicht stark geschädigt wird, ist sie gezwungen, sich dem neuen Milieu anzupassen. So ändert sie allmählich ihre Morphologie und nimmt ein anaplasmatisches Aussehen an, während ihr Reproduktionsprozeß auf eine einfache Spaltung zurückgeht.

Auf diese Weise lebt und vermehrt sich der Parasit weiter, bis der Boden, auf dem er sich befindet, vollkommen ungeeignet für seine Existenz wird.

Und weiter: Die pathogenen Protozoen bedingen, analog wie die Bakterien, im Wirtsorganismus eine Immunitätsreaktion, die allmählich zunehmend dem Leben des Parasiten selbst ein Ende setzen kann, wodurch es zur vollkommenen Heilung des Wirtes kommt.

Andere Male ist der Immunitätszustand, der sich infolge der Infektion ausbildet, kein vollständiger und scheint zur Vernichtung des Parasiten nicht hinreichend.

Gegenüber einem für sein gewöhnliches Leben nicht mehr geeigneten Milieu evolviert dieser dann, modifiziert sich und beginnt auch hier die Bildung von besonderen Formen, die als Resistenzformen betrachtet werden müssen, da sie lange Zeit in dem Organismus persistieren können, auch wenn dieser in einen scheinbar normalen Zustand zurückgekehrt ist.

Diese Erscheinung ist typisch bei den Piroplasmidae-Affektionen: Das Blut von Tieren, die bereits von künstlichen wie natürlichen Infektionen geheilt sind, kann auch verschiedene Monate nach der durchgemachten Krankheit seine Virulenz beibehalten.

Die Nuttallia kann nach Verlauf einiger Zeit seit erfolgter Infektion gegenüber der Immunitätsreaktion des Wirtes ihre Morphologie verändern; sie gewinnt dann ein anaplasmatisches Aussehen, identisch mit dem, das wir in den Kulturen haben entstehen sehen, und wie dieses vermehrt es sich weiter durch einfache Spaltungen.

Auf diese Weise kann es, wie bereits erwähnt, lange Zeit hindurch in dem kreisenden Blute der auf dem Wege zur Heilung begriffenen oder scheinbar bereits geheilten Pferde beobachtet werden.

Aus den summarischen Ausführungen über die bei den zahlreichen Untersuchungen über die Natur der Anaplasmen erzielten Resultate können wir gewiß nicht schließen, daß dieser Parasit von dem Lebenszyklus der übrigen Piroplasmen vollständig unabhängig sei.

Zwischen den ersten und den zweiten ist konstant ein gewisser Zusammenhang wahrgenommen worden, den vollständig zu lösen den

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 14:43 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

verschiedenen Versuchen nicht gelungen ist, und der uns unschwer dahin führt, die anaplasmatischen Formen für besondere Lebensphasen der Piroplasmen zu halten.

Die Tatsache, daß wir Fälle von reiner Anaplasmosis antreffen können und daß es häufig gelingt, diesen Parasiten in reinem Zustand zu übertragen, ist nicht hinreichend zur Rechtfertigung der Vorstellung von der Verschiedenheit dieser zwei Mikroorganismen. Unsere Beobachtungen an erkrankten Tieren kommen häufig zu spät, d. h. erst dann, wenn die Piroplasmenformen oder ursprünglichen Parasiten bereits aus dem Kreislauf verschwunden sein können.

Ueberdies können die künstlichen oder natürlichen Infektionen mit verschiedenem Piroplasmen oder Anaplasmen enthaltendem Material, wenn sie an immunisierten Tieren geschehen, d. h. an solchen, die der freien und normalen Entwickelung dieser Protozoen einen gewissen Widerstand entgegensetzen, ähnlich wie von mir an den auf dem Wege der Heilung begriffenen nuttalliosiskranken Pferden und in den Nuttallia-Kulturen beobachtet worden ist und wie Theiler selbst an mit derselben Infektion erkrankten und mit Trypanblau behandelten Pferden gesehen hat, anaplasmatische Formen reproduzieren.

Zum weiteren Beweis dessen sind von der größten Wichtigkeit die Versuche Koidzumis, dem es bei Einimpfung von das Anaplasma allein enthaltendem Blute in für die Babesia bigemina empfängliche Rinder gelang, in diesen Tieren die klassischen Babesiosisformen zu reproduzieren.

Da überdies die Anaplasmen die einzigen parasitären Formen sind, die im kreisenden Blute von auf dem Wege zur Heilung begriffenen oder bereits geheilten Tieren aufgefunden werden können, so ist es wahrscheinlich auf sie zurückzuführen, daß das Blut derselben Tiere noch längere Zeit nach der durchgemachten Krankheit infektiös bleibt, und obendrein ist mit großer Wahrscheinlichkeit denselben Elementen die Ursache der Rezidive zuzuschreiben [1]).

Die erwähnten Formen wären deshalb als echte Dauerelemente zu betrachten, d. h. ebenso, wie dieselben in den alten Kulturen von Nuttallia equi angetroffenen parasitären Formen von mir gedeutet worden sind.

Schlüsse.

1) Die Babesia caballi, in Blut-Natriumchlorid-Natriumcitratlösung kultiviert, bewahrt ihre Vitalität viele Tage lang, scheint sich aber nicht zu reproduzieren.

In der erwähnten Flüssigkeit bekommt man dagegen die Bildung von sexuellen Elementen, die identisch sind mit den in den Zecken auffindbaren, und wahrscheinlich bekommt man auch die Reifung und Befruchtung derselben Elemente.

1) Hier drängt es mich, auf ein interessantes Zusammentreffen im Verhalten der Babesia caballi und der Nuttallia equi in den Kulturen und in den infizierten Pferden aufmerksam zu machen. Die B. caballi erzeugt in den Kulturen keine anaplasmatischen Formen; derselbe Parasit bedingt in den Pferden keine Rezidive. Die N. equi erzeugt in den Kulturen anaplasmatische Formen; derselbe Parasit führt in den Pferden zu häufigen Rezidiven, wie ich in einer früheren Arbeit „Piroplasmosis equina-Parasitentypen“ (dieses Centralbl.) hervorgehoben habe.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 14:43 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

2) Die Nuttallia equi konserviert und reproduziert sich in derselben Kulturflüssigkeit. Nach einer gewissen Zeit erwirbt sie eine besondere Morphologie, die identisch ist mit der des Anaplasma. Die Reproduktion erfolgt wie bei letzterem Parasiten durch einfache Spaltung.

3) In den durch Nuttallia infizierten Pferden ist es gegen das Ende der Krankheit und einige Zeit nach der Heilung möglich, identische anaplasmatische Formen wie in den Kulturen nachzuweisen.

4) Die in den Nuttallia-Kulturen und in den nuttalliosiskranken Pferden beobachteten anaplasmatischen Formen sind als eine besondere Evolution dieses Pferdepiroplasma zu betrachten, beruhend auf den ungünstigen Lebensbedingungen in den Kulturen und auf den Immunitätsreaktionen der Pferde selbst.

5) Die Anaplasmen können daher im allgemeinen als spezielle Stadien verschiedenartiger Piroplasmen betrachtet werden: als echte Dauerformen oder Formen der Latenz, die imstande sind:

a) In empfänglichen Tieren dieselben Piroplasmeninfektionen zu erzeugen;

b) anaplasmatische Formen in den gewissermaßen immunisierten Tieren zu reproduzieren;

c) die Virulenz des Blutes dieser Tiere auch nach erfolgter Heilung aufrecht zu erhalten;

d) Rezidive zu bedingen.

Rom, Oktober 1913.

Literatur.

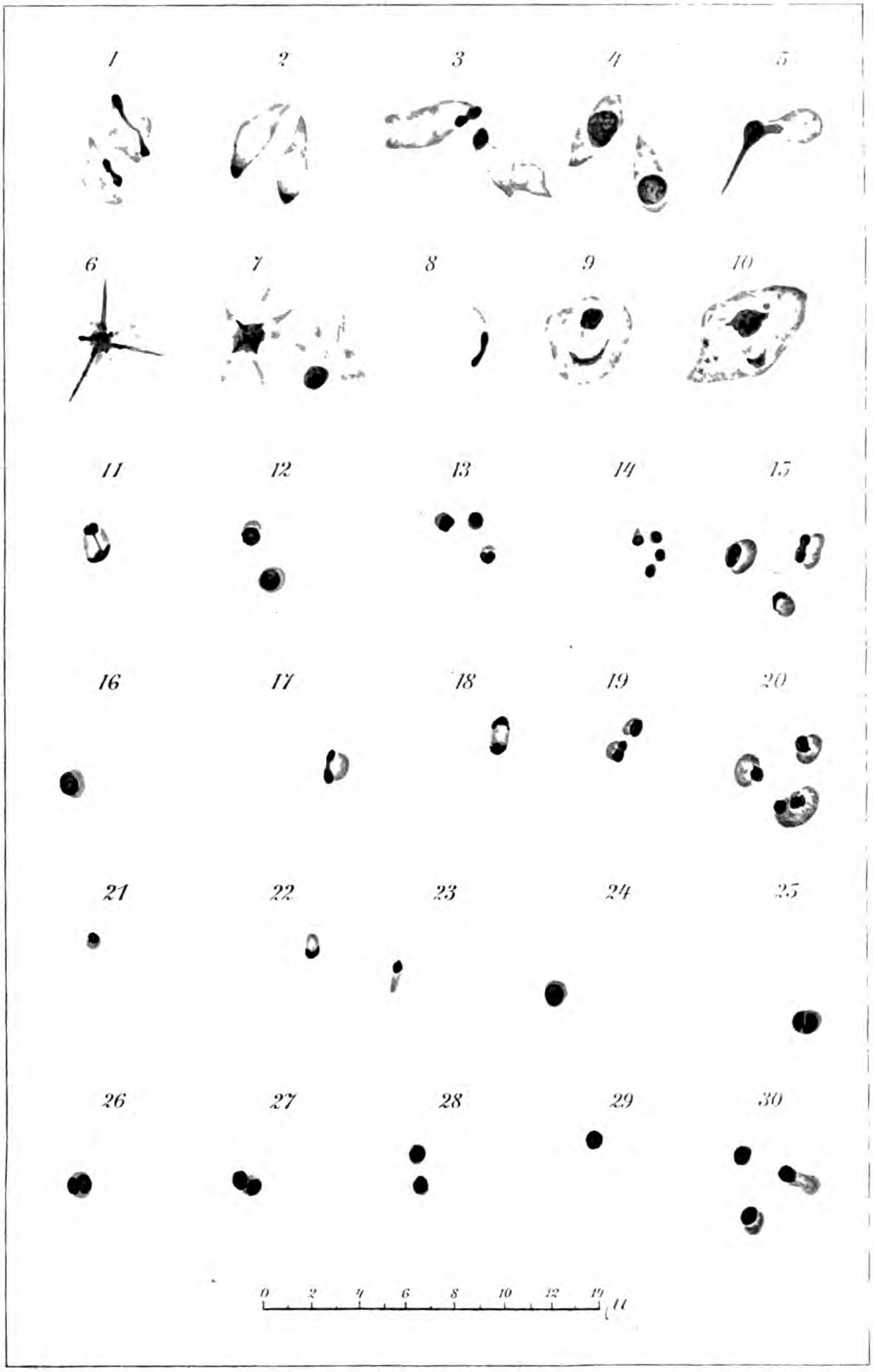
Balfour, Anaplasmosis in donkeys. (Journ. Comp. Pathol. and Therap. 1911.)
Bevan, Anaplasmosis of cattle. (Veterin. Journ. 1912.)
Brauer, Berlin. tierärztl. Wochenschr. 1903.
Bruce, Hamerton, Bateman and Mackie, Reports of the Sleeping Sickness Commission of the Roy. Soc. London 1910.
Carpano, La Febbre della Costa nei bovini della Colonia Eritrea. (La Clin. Veterin. 1912.)
—, L'anaplasma nei bovini della Campagna romana. (Il Moderno Zooiatro. 1912.)
—, Piroplasmosi equina. Tipi parassitarî. (La Clin. Veterin. 1913.)
Descler, Ein Beitrag zur Züchtung von Piroplasmen in künstlichen Nährböden. (Zeitschr. f. Hyg. 1900.)
Dias e Beaurepaire Aragao, Pesquizas sobre a natureza des Anaplasmas. (Brasil medico. 1913.)
Dodd, Anaplasma or Jolly Bodies? (Journ. Comp. Pathol. and Therap. 1913.)
Dschunkowsky u. Luhs, Die Piroplasmosen der Rinder. (Centralbl. f. Bakt. etc. 1904.)
Gilruth, Sweet and Dood, Parasitology. 1911.
Jowett, Some observations on the subject of Marginal Points. (Journ. Comp. Pathol. and Therap. 1911.)
Kleine, Kultivierungsversuche der Hundepiroplasmen. (Zeitschr. f. Hyg. 1900.)
Knuth, Studien über das Texasfieber (La Tristeza) der Rinder in den La Plata-Staaten. Berlin 1906.
Koch, Beiträge zur Entwickelungsgeschichte der Piroplasmen. (Zeitschr. f. Hyg. 1906.)
Koidzumi, On the nature of the marginal points occurring in the blood corpuscles of cattle. (Centralbl. f. Bakt. etc. 1912.)
Kolle u. Turner, Ueber Schutzimpfungen und Heilserum bei Rinderpest. (Zeitschr. f. Hyg. 1898.)

Generated on 2019-09-15 14:43 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-15 14:43 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Digitized by Google

Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN



Dr. M. Carpano dis. Verlag von Gustav Fischer in Jena Lith. Anst. v. A. Giltsch, Jena

Generated on 2019-09-15 14:43 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Lichtenheld, Beitrag zur Diagnose der durch kleine Piroplasmen verursachten Krankheiten beim Rinde unter Berücksichtigung ihrer Verbreitung. (Zeitschr. f. Hyg. 1910.)
Lignières, La tristeza, or Malaria bovine dans la République Argentine. Buenos-Aires 1900.
Martini, The development of a Piroplasma and Trypanosoma of cattle in artificial culture media. (Philippine Journ. of Med. Scienc. 1909.)
Marzinowsky, Ueber die Züchtung von Piroplasma equi. (Zeitschr. f. Hyg. 1909.)
Miyajima, On the cultivation of a bovine Piroplasma. (Philippine Journ. of Med. Scienc. 1907.)
Nuttall and Graham-Smith, Theileria parva. Attemps at cultivation. (Parasitology. 1909.)
Ollwig u. Manteufel, Babesia mutans in Deutsch-Ostafrika und Beobachtungen über die mikroskopische Differentialdiagnose dieses Parasiten. (Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg. 1910.)
Sieber, Anaplasma marginale. (Report of the Governement Veter. Bact. Union South Africa. 1909—1910.)
Smith and Kilborne, Eighth Annual Report of Bureau of Animal Industry. Washington 1893.
Spreull, Note on the occurrence of marginal points or a new intra-corpuscular parasite in the blood of the cattle in South Africa. (Journ. of Comp. Pathol. and Therap. 1909.)
Theiler, Piroplasma mutans and the disease caused by it. (Report of the Governement Veter. Bact. Transvaal 1905—1906.)
—, Further inoculation experiments with South African Redwater. (Report of the Governement Veter. Bact. Transvaal 1908—1909.)
—, The marginal points in the literature on piroplasmosis. (Report of the Governement Veter. Bact. Transvaal 1908—1909.)
—, The association of Piroplasma bigeminum, Anaplasma marginale and Piroplasma mutans in South African cattle. (Report of the Governement Veter. Bact. Transvaal 1908—1909.)
—, Anaplasmosis of cattle. (Report of the Governement Veter. Bact. Transvaal 1908—1909.)
—, Further investigations into Anaplasmosis of South African cattle. (First Report of the Director of Veter. Research. Pretoria 1911.)
—, Das Trypanblau und Trypanrot in der Behandlung der Piroplasmosen und deren praktische und theoretische Bedeutung. (Zeitschr. f. Infektionskrankh. d. Haustiere. 1912.)
—, Weitere Untersuchungen über die Anaplasmosis der Rinder und deren Schutzimpfung. (Zeitschr. f. Infektionskrankh. d. Haustiere. 1912.)
—, Uebertragung der Anaplasmosis mittels Zecken. (Zeitschr. f. Infektionskrankh. d. Haustiere. 1912.)

Nachtrag bei der Korrektur:

Knuth u. Richter, Ueber die Vermehrung von Piroplasma in vitro. (Berlin. tierärztl. Wochenschr. 191.)
Ziemann, Ueber Kultur der Malariaparasiten und der Piroplasmen (P. canis) in vitro. (Arch. f. Schiffs- u. Tropenkrankh. 1913.)
Toyoda, Züchtungsversuche mit Babesia canis nach der Bassschen Methode. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. 1913.)

Tafelerklärung.

Die auf der beigegebenen Tafel gebrachten Abbildungen sind direkt unter dem Mikroskop gezeichnet und während der zahlreichen Beobachtungen von Blutausstrichen erhoben, die zu verschiedenen Zeiten aus den Kulturen entnommen, in verschiedener Weise fixiert und mit Chromatinlösungen gefärbt wurden.

Die Vergrößerung der Figuren ist durch die unten stehende Skala angegeben.

Babesia caballi.

Fig. 1—4. Aus 48-stündigen Kulturen.
Fig. 5—8. Aus ca. 8 Tage alter Kultur.
Fig. 9—10. Aus mehr als 8 Tage alter Kultur.

Nuttallia equi.

Fig. 11—15. Aus 48-stündiger Kultur.
Fig. 16—20. Aus 3—4 Tage alter Kultur.
Fig. 20—30. Aus 5 und mehr Tage alter Kultur.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 14:43 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Nachdruck verboten.

Note on Distomum trachinoti MacCallum.

By **Edwin Linton.**

My good friend Dr. G. A. MacCallum, in his description of the above species, states (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 70. p. 411) that I have referred a similar form to the species D. vitellosum.

Reference to my Parasites of Fishes of Beaufort, North Carolina (Bull. of the Bur. of Fisheries. Vol. 24. p. 367. fig. 204) will show that I noted this form under the name Distomum sp., from Trachinotus carolinus. A longitudinal section of the distome was figured. Owing to the fact that but one specimen was seen I thought best not to give it a specific name.

Washington, Pennsylv., U.S.A., Nov. 24, 1913.

Nachdruck verboten.

Zur Virulenz des fixen Virus der Tollwut für den Menschen.

[Aus dem bakteriologischen Institut der Charkower Medizinischen Gesellschaft.]

Von **S. Kozewalow.**

Mit 1 Abbildung.

Die Frage von der Virulenz des fixen Virus der Tollwut für den Menschen wird in der letzten Zeit durch die Mehrzahl der Forscher dahin beantwortet, daß dieses Virus wenigstens bei jener Einführungsart, die bei den Schutzimpfungen üblich ist, d. h. bei der subkutanen, für den Menschen nicht virulent sei. Das fixe Virus der Lyssa werde derart im Organismus des Kaninchens verändert, daß es die Virulenz für den Menschen verliere; im Organismus des Menschen könne es sich weder vermehren, noch verbreitern. Diese Anschauung stützt sich auf Versuche, die am Menschen angestellt worden sind.

So injizierte sich Nitsch[1]) ohne Schaden in die Rückenmuskulatur eine Emulsion aus dem Rückenmark eines Kaninchens, das an Laboratoriums-Wutkrankheit zugrunde gegangen war. Das Kontrollkaninchen ging an Tollwut zugrunde.

Proescher[2]) in New York führte 2 Personen in die tiefen Muskeln des Rückens je ein ganzes Großhirn von an Laboratoriums-Wutkrankheit zugrunde gegangener Kaninchen ein. Beide Menschen blieben gänzlich gesund.

Für die Nichtvirulenz des fixen Virus für den Menschen sprechen auch die Versuche von Marx[3]) an Affen. Nach Injektionen des fixen

1) Nitsch, Bemerkungen über die Pasteursche Methode der Schutzimpfungen. (Wien. klin. Wochenschr. Bd. 17.)

2) Proescher, A danger free method of using freshly prepared virus from the brain of the hydrophobic rabbit. (New York Med. Journ. 1909.)

3) Marx, Zur Theorie der Pasteurschen Schutzimpfungen gegen Tollwut. (Dtsche med. Wochenschr. 1900. No. 29.)

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 14:43 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Virus in die Muskulatur beobachtete er bei ihnen keine Wutkrankheit, während die Injektion von Straßenvirus unter denselben Bedingungen die Krankheit hervorrief.

Auf Grund der vermeintlichen Unschädlichkeit des fixen Virus für den Menschen gebrauchen viele Pasteur-Institute bei den Präventivimpfungen das frische oder wenig abgeschwächte fixe Virus. So behandelt Ferran in Barcelona, ebenso wie auch seine Schüler, die Patienten mit frischem, fixem Virus. Babes gebraucht in Fällen von schweren Bissen frisches fixes Virus, welches in größeren Quanitäten eingeführt wird. Deutsche Schutzimpfstationen (Berlin, Breslau) bedienen sich einer sehr intensiven Methode, die darin besteht, daß die Kur mit 3-tägigem Rückenmark beginnt, am 2. Tage das 2-tägige Mark injiziert wird und schon am 3. Tage das eintägige. Im Laufe der 21-tägigen Behandlung erhalten die Patienten 11mal eintägiges Mark.

Vom Standpunkte der Vertreter der Meinung, daß das fixe Virus für den Menschen unschädlich sei, ist die Möglichkeit der Tollwutübertragung durch die Schutzimpfungen unmöglich. Dessenungeachtet häufen sich in der Literatur immer mehr und mehr Veröffentlichungen von Fällen an über sich nach den Schutzimpfungen entwickelnde Lähmungserscheinungen.

Wie schon längst bekannt, entwickelt sich, wenn auch sehr selten, bei Leuten, die mit Tollwutpräventivimpfungen behandelt werden, im Laufe der Behandlung oder bald danach eine Lähmung verschiedener Muskelgruppen zentraler Natur. Meistenteils handelt es sich um eine Paraplegie der unteren Extremitäten, kombiniert mit Blasen- und Mastdarmparalyse, die in Heilung ausgeht, zuweilen aber die Form einer akuten, aufsteigenden Paralyse vom Landryschen Typus annimmt und rasch zum Tode führt.

Vor kurzem hat Simon[1]) alle bis jetzt bekannten Fälle der Paralysen, die nach Schutzimpfungen aufgetreten sind, gesammelt. In seinem umfangreichen und sehr wertvollen Artikel kommt er auf Grund des Studiums der gesammelten Fälle zu wichtigen Schlußfolgerungen, die ich hier kurz anführen möchte.

Es sind nach Simon im ganzen 103 Lähmungen im Verlaufe der Tollwutschutzimpfung bekannt. Diese 103 Fälle kommen auf 211774 Personen, die sich der Schutzimpfung unterzogen hatten, d. h. die Häufigkeit der Lähmungen beträgt 0,48 Prom.; von diesen 103 Fällen gibt es genauere Berichte nur über 84.

Diese Erkrankungen manifestierten sich bald nach der Einführung der Pasteurschen Methode der Schutzimpfung und werden seitdem fast alljährlich, bald in dem einen, bald in dem anderen Pasteur-Institut, beobachtet. In 50 Proz. der Fälle äußert sich diese Erkrankung in Form von Paresen oder Paralysen der unteren Extremitäten, begleitet von Lähmungen der Blase und des Mastdarms, in 42 Proz. in Form der aufsteigenden Paralyse und in sonstigen Fällen als Lähmung des Facialis und einzelner Muskelgruppen. In 61,9 Proz. verläuft die Krankheit akut und in 37,7 Proz. chronisch, wobei sie mehrere Monate dauern kann. Es unterliegen der Erkrankung meistens Erwachsene. Unter 84 Fällen blieb in 20 das Alter unbekannt; in 9 Fällen erkrankten Kinder unter 12 Jahren und in 55 Leute im Alter über 12 Jahre.

1) Simon, Ueber Lähmungen im Verlaufe der Tollwutschutzimpfung. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 68. H. 1.)

Generated on 2019-09-15 14:43 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Männer erkrankten viel öfter als Frauen. Unter den Kranken waren 60 Männer, 10 Frauen und 14 Personen unbekannten Geschlechtes. Von 84 Fällen endigten 19 letal, d. h. die Sterblichkeit war = 22,6 Proz. In den Fällen, die akut verliefen, betrug die Sterblichkeit = 68,75 Proz., in den chronischen 21,05 Proz. Bei den Paraplegieen beträgt die Sterblichkeit = 8,8 Proz., bei aufsteigender Paralyse = 41,6 Proz. Pathologisch-anatomisch äußert sich diese Erkrankung in einer Myelitis. Die Negrischen Körperchen sind in den Leichen noch nie gefunden worden. Prädisponierende Momente bilden: Alkoholismus, Syphilis, Neurasthenie. Die Paralysen entwickeln sich bei sämtlichen Arten der Präventivimpfung; am seltensten bei Impfungen nach der Methode von Högyes.

Die Inkubationsperiode, vom Beginne der Impfungen an gerechnet, ist bedeutend kürzer als bei der Tollwut: in 25,69 Proz. dauert sie weniger als 10; in 62,16 Proz. 11—20; in 12,16 Proz. 21—30 Tage. Simon hebt hervor, was auch schon andere Autoren betont haben, daß diese Paralysen nicht allein bei jenen Personen beobachtet wurden, die durch tolle Hunde gebissen worden sind, sondern auch bei solchen, die durch Hunde gebissen wurden, die später als gesund anerkannt werden mußten, sowie auch, was noch wichtiger ist, bei Personen, die überhaupt nicht gebissen worden waren, sondern nur in Berührung mit verdächtigen Tieren gekommen waren, wo also die Möglichkeit der Ansteckung mit dem Tollwutvirus sehr problematisch war.

Die Fälle von Lähmungen im Verlaufe der Tollwutschutzimpfung ereigneten sich selbstverständlich in der Praxis der russischen Schutzimpfstationen. Da ich nicht die Absicht habe, alle diese Fälle zu sammeln, will ich nur die mir bekannten mitteilen:

5 Fälle, die von Dr. Mucharinski aus der Praxis der Schutzimpfstation zu Tiflis beschrieben waren[1]). 4 davon sind durch Paraplegieen charakterisiert und der 5. verlief in Form von Lähmung der NN. facialis, hypoglossi und glossopharyngei. Alle liefen in Genesung aus. 1 Fall von Dr. Abramow aus der Praxis der Schutzimpfstation zu Rostow[2]). In diesem Falle verlief die Krankheit in der Form der chronischen, aufsteigenden Paralyse und endigte in 4 Wochen letal. Die Leiche wurde nicht obduziert.

Das Pasteur-Institut in Charkow wurde am 20. April 1887 eröffnet. Im Verlaufe der 26-jährigen Periode seines Bestehens wurde hier die Tollwutpräventivimpfung an 39 000 Personen ausgeführt. In dieser Zeit wurden 10 Fälle von Lähmungen nach der Impfung registriert; 4 davon sind von Wyssokowitsch, 4 von Nedrigailow und Ostrjanin beschrieben, 1 blieb unbeschrieben (v. J. 1903), und den 10. Fall beabsichtige ich in dem vorliegenden Artikel zu beschreiben.

Somit beträgt die Zahl der Paralysen in dem Charkower Pasteur-Institut 0,25 Prom. Die Fälle, welche Wissokowitsch beobachtete, sind wenig studiert worden. Er erwähnt sie im Berichte über die Tätigkeit des Charkower Pasteur-Instituts für das Jahr 1894 nur kurz; alle sind durch Paraplegieen charakterisiert und liefen in Genesung aus.

Die 4 von Nedrigailow und Ostrjanin[3]) beschriebenen Fälle ereigneten sich im Jahre 1895 fast gleichzeitig. 3 davon betrafen Ge-

1) Ber. d. Kaiserl. kaukas. med. Gesellsch. 1907. No. 15.
2) Ber. d. Schutzimpfstation zu Rostow. 1908.
3) Nedrigailow u. Ostrjanin, Zur Frage über die Gründe der Paralysen bei der Pasteurschen Vaccination. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 39.)

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 14:43 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

schwister (2 Brüder und 1 Schwester), die gleichzeitig mit Präventivimpfungen behandelt wurden. In 3 Fällen verlief die Krankheit in Form von Paraplegieen mit Blasen- und Mastdarmparalyse und dauerte einige Monate. Im 4. Falle handelte es sich um vorübergehende Paresen der Extremitäten. Bemerkenswert ist es, daß der Hund, der den einen von diesen Patienten gebissen hatte, einige Monate später ganz gesund befunden wurde.

Der Fall vom Jahre 1903 verlief ebenso in Form von Paraplegieen mit Blasen- und Mastdarmparalysen und endete mit Genesung.

Endlich ereignete sich im Jahre 1913 ein Fall, der den Charakter einer akuten, aufsteigenden Paralyse hatte und unten beschrieben werden soll.

Bevor ich mit der Beschreibung dieses Falles beginne, möchte ich noch einiges zur Charakteristik des fixen Virus des Charkower Pasteur-Instituts sagen, sowie auch über die hier übliche Methode der Vaccination.

Gegenwärtig arbeite ich an der Erforschung der Qualitäten des Charkower fixen Virus. Mein Studium ist noch nicht beendet, jedoch kann ich schon jetzt auf Grund der dabei erhaltenen Resultate folgendes mitteilen:

Kaninchen, welche durch die Dura mater mit dem Charkower fixen Virus infiziert werden, erkranken nach 6—7 Tagen an Tollwut und gehen am 8.—9. Tage nach der Infektion zugrunde.

Versuche mit Infektion der Kaninchen durch das fixe Virus in Lösungen verschiedenen Grades und filtriert durch Filtrierpapier, ergaben folgende Resultate:

Das fixe Virus des Charkower Pasteur-Instituts besitzt in der Lösung von 1 : 1000 die volle Virulenz, d. h. Kaninchen, die mit einer solchen Lösung unter die Dura mater infiziert werden, erkranken an Tollwut mit derselben Inkubationszeit, wie die Passagekaninchen. Kaninchen, die mit dem fixen Virus in einer schwächeren Verdünnung als 1 : 1000 infiziert werden, erkranken gleichfalls an Tollwut, jedoch nicht alle, wobei in der Regel die Inkubationszeit größer ist, wenn auch nicht in allen Fällen. Sogar bei einer Verdünnung von 1 : 200 000 erkrankte die Hälfte der infizierten Kaninchen an Tollwut mit verlängerter Inkubationsperiode.

Bei subkutaner Infektion von weißen Mäusen mit fixem Virus erkrankten 67 Proz. an Tollwut.

Das Rückenmark von Kaninchen, die an Infektion mit dem fixen Virus zugrunde gegangen waren, wurde in 2 Teile zerlegt und in 2 Gläser gelegt, die 1200 g Inhalt hatten. Auf dem Boden der Gläser befinden sich je 50,0 Aetzkali. Das Mark wird bei 20° C getrocknet.

Die Virulenz des getrockneten Markes war folgende:

Kaninchen, die sub duram mit der Markemulsion von 1-tägiger Trocknung, in einer Lösung von 1 : 100, filtriert durch Filtrierpapier, infiziert wurden, gingen alle zugrunde bei einer normalen Inkubationsdauer von 6—7 Tagen. Von den Kaninchen, die mit der Emulsion von 2-tägiger Trocknung infiziert wurden, erkrankten 75 Proz. an Tollwut. Die Inkubationsperiode in der Hälfte der Fälle war normal, in der anderen um 1 Tag größer. Von den Kaninchen, die mit einer Markemulsion von 3-tägiger Trocknung infiziert wurden, erkrankten 15 Proz. an Tollwut mit verlängerter Inkubationsperiode. Von den Kaninchen, die mit einer Markemulsion von 4-tägiger Trocknung infiziert wurden,

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 14:43 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

erkrankten 10 Proz. mit verlängerter Inkubationszeit. Alle Kaninchen, die mit einer Markemulsion von 5-tägiger Trocknung infiziert wurden, blieben gesund.

Das in Charkow gebräuchliche Schema der Vaccination ist folgendes:

Am 1. Tage der Behandlung wird 4-tägiges Mark eingeführt, am 2. Tage ebenso 4-tägiges, am 3. 3-tägiges, am 4. 2-tägiges, am 5. wieder 4-tägiges, darauf 3-tägiges, 2-tägiges usw. bis zur Vollendung der Behandlung, die in schweren Fällen 20, in mittleren Fällen 14—15 und in leichten Fällen 10 Tage in Anspruch nimmt.

Für jeden Vaccinierten werden ungefähr 2 mm Rückenmark genommen, die mit 3,0 ccm physiologischer Kochsalzlösung zur Emulsion zerrieben werden.

Die Impfung geschieht 1mal täglich. Diese Methode ist in Charkow seit 1909 üblich. Die Methode, welche früher in Gebrauch war, zeichnete sich durch eine geringere Intensivität aus. Die Abweichung bestand darin, daß den Gebissenen Mark von 6- und 5-tägiger Trocknung eingeführt wurde und die Behandlung höchstens 14 Tage dauerte.

Von 1903—1913, d. h i.m Laufe von 10 Jahren, ist im Charkower Pasteur-Institut kein einziger Fall von Paralyse nach den Schutzimpfungen beobachtet worden. Erst im April 1913 kam ein sehr schwerer Fall vor, der den Charakter einer akuten, aufsteigenden Paralyse annahm und in einigen Tagen letal endigte. Diesen Fall haben wir recht genau untersucht und in Verbindung mit anderen analogen Fällen hat er die Aufgabe, die Aetiologie dieser seltenen Erkrankung zu beleuchten.

Die Geschichte dieser Falles folgt im nachstehenden.

(Die klinischen Beobachtungen sind mir von Dr. A. Hahn mitgeteilt worden, dem ich hiermit meinen Dank ausspreche.)

Frau, 27 Jahre alt.

Seit März 1908 verminderte sich bei der Pat. das Körpergewicht; schon damals wurde eine Erkrankung der rechten Lungenspitze festgestellt. $3^1/_2$ Jahre war die Pat. wegen Hystero-Neurasthenie in Behandlung. Symptome: Globus hystericus, Herzpalpitationen, Atembeschwerden, Reizbarkeit, Furcht vor Geisteskrankheit, allgemeine Schwäche, Labilität der Stimmung, schlechter Schlaf, Tremor der Lider, Knierefleхe erhöht.

Am 29. März 1913 wurde Pat. von einem Hunde gebissen, bei dem Tollwut festgestellt wurde; in seinem Ammonshorn wurden zahlreiche Negrische Körperchen gefunden.

Ein Kaninchen, welches mit dem Gehirn der Verstorbenen infiziert wurde, ging zugrunde mit einer Inkubationsdauer von 36 Tagen.

Am 31. März begann die Behandlung mit Pasteur-Schutzimpfungen, die bis zum 19. April fortgesetzt wurden. Die Impfungen wurden schlecht vertragen. Pat. klagte über Schmerzen an den Injektionsstellen und über Schwäche.

Am 18.—20. April bemerkte sie ziehende Schmerzen in den Beinen, Stechen in den Fußsohlen und Zehen. Am 20. April stellte sich Schwäche in den Beinen ein; am 21. April war die Abendtemperatur 37,5; Pat. klagt über Schmerzen in den Beinen und häufigen Harndrang; in der Nacht verstärkten sich die Schmerzen ganz bedeutend, wurden reißend, verbreiteten sich bis an die Füße, die Lumbalgegend und Arme; die Kranke vertrug keine Berührung der Haut; die Schwäche der Beine verstärkte sich.

Am 22. April Temperatur 37,8, abends 38,6. Harnretention. Katheterisation. Unsicherer Gang; die Kranke kann sich kaum auf den Beinen halten; Hautsensibilität an den Beinen vermindert; in der Nacht heftige Kopfschmerzen, Uebelkeit, Erbrechen.

Am 23. April vollständige Paralyse der unteren Extremitäten, der Blase und des Mastdarms. Temperatur am Morgen 38,5; Kopfschmerzen, Erbrechen, stechende Schmerzen in der Brust und in den Armen. Abendtemperatur 39,5, Puls 140, Atmung 50. Pupillen gleichmäßig, mit normaler Reaktion. Von der 9. Rippe an bis nach unten völliger Verlust aller Sensibilität; Fehlen von willkürlicher Beweglichkeit in den Beinen; Bauch-, Knie-, Achillessehnen- und rechter Fußsohlenreflex fehlen gänzlich.

Reizung der linken Fußsohle ruft nur eine leichte plantare Biegung der großen Zehe hervor (Phänomen von Kernig).

Generated on 2019-09-15 14:43 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Am 24. April war die Morgentemperatur 39,0, am Mittag 40,0, abends 40,4; Pat. trinkt mit Mühe und in kleinen Schlucken; es werden jedoch keine Krämpfe beobachtet. Erbrechen.

25. April. Pat. deliriert die ganze Nacht. Morgentemperatur 39,6, Puls 126, Atmung 38. Nystagmusartige Zuckungen der Augäpfel. Große Schwäche; die Kranke spricht leise und mit Mühe. Beugung des Kopfes nach vorn schmerzhaft; Armbewegungen erschwert und verlangsamt. Reflexe in der unteren Körperhälfte fehlen gänzlich; Harn- und Stuhlretention.

26. April. Temperatur 37,6, Atmung 42, Puls 132. Allgemeinbefinden besser. Pat. hat Wasser getrunken, wenn auch mit einiger Aufregung und in kleinen Schlucken, im ganzen $1^1/_2$ Glas. Um 1 Uhr unwillkürliche Stuhlentleerung; Temperatur stieg bis 39,8. Pupillen gleich, nicht erweitert, nystagmusartige Zuckungen der Augäpfel. Der rechte Mundwinkel schief, deutliche, aber stolpernde Sprache. Flüssigkeiten werden nur mit Mühe in kleinen Schlucken verschluckt; Krämpfe fehlen; starke Armparese; Reflexe an den Armen fehlen. Um 5 Uhr abends starke Speichelabsonderung. Pat. kann den Speichel weder ausspucken, noch verschlucken. Sprache kaum verständlich; Temperatur 38,6, Puls 132. Um 7 Uhr abends verstarb die Kranke bei Bewußtsein, allem Anschein nach an der Paralyse der Atmungsmuskulatur.

Wir haben also hier ein typisches Bild einer akuten, aufsteigenden Paralyse, wie sie in analogen Fällen auch von anderen Autoren beschrieben wurde. In einem Zeitraume von weniger als 1 Woche wurden bei ständig hoher Temperatur das Rückenmark und die Oblongata betroffen. Am letzten Tage stellten sich Bulbärsymptome ein, Paralysen NN. facialis, oculomotorius, hypoglossi, glossopharyngei. Die Dysphagie, die bei der Kranken an den letzten Tagen beobachtet wurde, erklärt sich durch die Paralyse des Nervus glossopharyngeus. Diese Dysphagie hatte nicht den Charakter jenes Schluckspasmus, der bei der echten Lyssa humana beobachtet wird, wo der Mensch nicht nur außer stande ist, etwas zu verschlucken, sondern wo sogar der Anblick des Wassers oder ein Hervorrufen der Vorstellung des Wassers Krämpfe der Schluckmuskulatur hervorruft. Die Kranke konnte sogar am letzten Tage Wasser in kleinen Schlucken und in recht großen Quantitäten trinken. Wasserscheu ebenso wie Luftscheu fehlten; eine erhöhte reflektorische Erregbarkeit, die für die Lyssa humana charakteristisch ist, wurde nicht beobachtet.

Der Mann der Verstorbenen gestattete die Obduktion des Schädelraumes und die Herausnahme des Gehirns.

Diese Obduktion hatte liebenswürdigerweise Dr. Tomaschewsky übernommen und die Gehirnuntersuchung zusammen mit Dr. Jeilenewsky, denen ich hiermit meinen Dank dafür ausspreche, gemacht. Es wurden bei makroskopischer Untersuchung keine Abweichungen von der Norm entdeckt, abgesehen von Hyperämie. Die Untersuchung des Ammonshorns auf die Negrischen Körperchen hin hatte ich selbst übernommen. Die Schnitte wurden nach Lentz und nach meiner Methode gefärbt, Negrische Körperchen wurden aber nicht gefunden. Die Resultate der Infektion von Kaninchen mit diesem Gehirne unter die Dura sind auf dem beiliegendem Schema dargestellt.

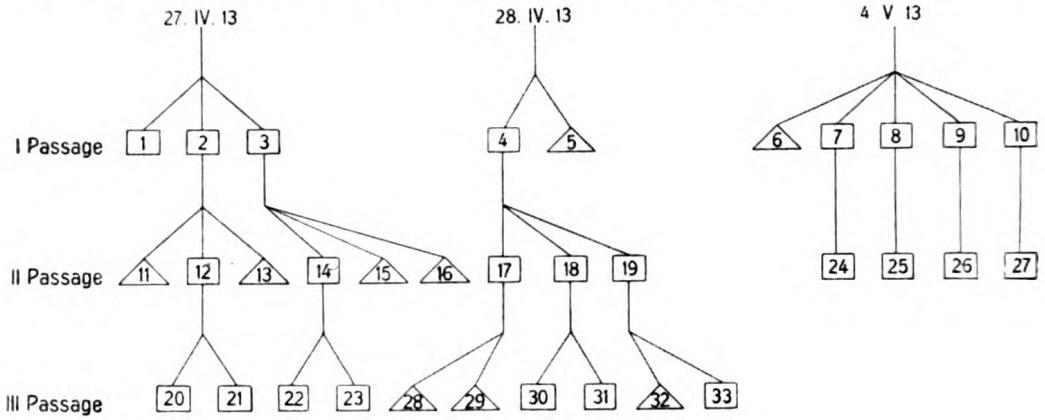
Aus der folgenden Tabelle ersieht man den Zeitpunkt der Infektion der Tiere, den Zeitpunkt ihrer Erkrankung und des Exitus, sowie auch die Dauer der Inkubationsperiode.

Aus dem Schema und der Tabelle ist zu ersehen, daß die Versuche mit 33 Kaninchen angestellt worden waren; 9 von ihnen gingen an Sepsis zugrunde und 24 erkrankten an Tollwut mit einer Inkubationsperiode von 6—7 Tagen, d. h. an einer solchen Tollwut, an der die Kaninchen erkranken, welche mit dem Charkower fixen Virus infiziert werden. Von den 3 Serien der Infektion (27. April, 28. April und

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 14:43 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Schema der Kaninchenversuche.

Mit dem Großhirn der Gestorbenen waren Kaninchen unter die harte Hirnhaut infiziert.



Anm. □ Kaninchen, die an Tollwut zugrunde gegangen waren

△ „ „ „ Sepsis „ „ „

Tabelle.

No. des Kaninchens	Passage	Infiziert	Erkrankt	Zugrunde gegangen	Dauer der Inkubationsperiode
1	I.	27. 4. 13	3. 5. nachts	5. 5. nachts	6,5 Tage
2	I.	27. 4.	3. 5. morgens	4. 5. nachm.	6 „
3	I.	27. 4.	3. 5. nachts	4. 5. nachts	6,5 „
4	I.	28. 4.	4. 5. morgens	5. 5. nachts	6 „
5	I.	28. 4.		29. 4.	Sepsis
6	I.	4. 5.		7. 5.	„
7	I.	4. 5.	11. 5. morgens	12. 5. nachts	7 Tage
8	I.	4. 5.	11. 5. nachts	13. 5. morgens	7,5 „
9	I.	4. 5.	11. 5. morgens	13. 5. morgens	7 „
10	I.	4. 5.	11. 5. morgens	13. 5. morgens	7 „
11	II.	4. 5.		5. 5.	Sepsis
12	II.	4. 5.	10. 5. abends	12. 5. nachts	6,5 Tage
13	II.	4. 5.		5. 5.	Sepsis
14	II.	4. 5.	10. 5. nachts	12. 5. morgens	6,5 Tage
15	II.	4. 5.		5. 5.	Sepsis
16	II.	4. 5.		5. 5.	„
17	II.	6. 5.	12. 5. morgens	13. 5. morgens	6 Tage
18	II.	6. 5.	12. 5. morgens	14. 5. morgens	6 „
19	II.	6. 5.	12. 5. morgens	14. 5. morgens	6 „
20	III.	12. 5.	18. 5. abends	20. 5. morgens	6,5 „
21	III.	12. 5.	18. 5. abends	20. 5. morgens	6,5 „
22	III.	12. 5.	18. 5. abends	20. 5. morgens	6,5 „
23	III.	12. 5.	18. 5. abends	20. 5. morgens	6,5 „
24	II.	13. 5.	19. 5. morgens	20. 5. nachts	6 „
25	II.	13. 5.	19. 5. morgens	20. 5. nachts	6 „
26	II.	13. 5.	20. 5. morgens	22. 5. morgens	7 „
27	II.	13. 5.	20. 5. morgens	20. 5. nachts	6 „
28	III.	13. 5.		14. 5.	Sepsis
29	III.	13. 5.		18. 5.	„
30	III.	14. 5.	20. 5. abends	22. 5. morgens	6,5 Tage
31	III.	14. 5.	20. 5. morgens	21. 5. abends	6 „
32	III.	14. 5.		15. 5.	Sepsis
33	III.	14. 5.	20. 5. morgens	22. 5. morgens	6 Tage

Generated on 2019-09-15 14:43 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

4. Mai 1913) ist in 2 Serien das Virus durch 3 Passagen übertragen worden und in einer Serie durch 2 Passagen. Bei den Versuchen war die Gehirnemulsion, mit welcher die Kaninchen sub duram infiziert wurden, auf schiefen Agar gebracht worden; nach dem Tode wurde an den Kaninchen die Obduktion ausgeführt und danach wurde aus dem Herzblute eine Aussaat gemacht. Die von der Gehirnemulsion waren stets steril gehalten, ebenso auch die des Herzblutes, falls die betreffenden Kaninchen an Tollwut zugrunde gegangen waren. Aus dem Herzblute der Kaninchen, die an Sepsis zugrunde gegangen waren, war der Bacillus der Kaninchenseptikämie gewachsen. Bei der Untersuchung der Ammonshörner der an Tollwut zugrunde gegangenen Kaninchen wurden keine Negrischen Körperchen gefunden; im Ammonshorn einiger Kaninchen fanden sich die Passagekörperchen von Lentz.

Simon[1]) führt in seiner oben erwähnten Arbeit 16 Fälle von akuter, aufsteigender Paralyse nach den Präventivimpfungen an, von denen 11 letal endigten. Unser Fall ist also der 17.

Wir wollen hier diejenigen Fälle mit letalem Ausgang näher betrachten, bei denen die Tiere mit dem Gehirn der Obduzierten infiziert worden sind. Hierher gehören vor allem die 5 Fälle von Bareggi[2]) (Mailand).

Sämtliche Patienten erkrankten einige Tage nach dem Schlusse der Behandlung nach der Ferránschen Methode. Nach der Prodromalperiode stellte sich Schwäche in den Beinen ein. Darauf entwickelte sich eine Paralyse, zuerst des einen, bald danach des anderen Beines, mit Urinretention. Abnahme der taktilen Sensibilität und der Reflexe an den betroffenen Extremitäten; bald darauf erhielt die Paralyse den Charakter einer aufsteigenden, die Temperatur stieg, es stellten sich Bulbärsymptome ein und in weniger als 1 Woche trat der Tod ein.

Bei der Obduktion fand man eine starke Hyperämie des Zentralnervensystems und eine Trübung der Dura ohne Exsudat.

Die Injektion des Rückenmarkes der Gestorbenen in das Gehirn von Kaninchen ergab das Bild der gewöhnlichen paralytischen Tollwut, wie sie durch starkes fixes Virus hervorgerufen wird, mit einer Inkubationsperiode von 5—6 Tagen.

Fall von Babes und Mironescu[3]):

Frau, 40 J. alt, nervös, erkrankte am 14. Tage der Behandlung und am 20., nach dem Bisse, an Paralyse der unteren Extremitäten; darauf entwickelte sich eine aufsteigende Paralyse und die Kranke starb nach 15 Tagen. Sie wurde obduziert und der mikroskopische Befund ergab eine Myelitis. Negrische Körperchen wurden nicht gefunden; Kaninchenimpfung hatte negatives Resultat.

Fall von Babes[4]):

Mann, 26 J. alt, neurasthenisch, durch die Hose gebissen, ohne merkliche Läsion. Infektion sehr zweifelhaft. Erkrankte am 12. Tage der Behandlung, am 14. nach dem Bisse. Am 3. Tage Paralyse beider Beine; am 4. aufsteigende Paralyse und Tod. Kaninchenimpfung mit dem Gehirne des Gestorbenen war negativ.

Fall von Babes[5]):

42-jähriger Mann, neurasthenisch, gebissen von einem tollen Hunde an beiden Händen, erkrankte am 12. Tage der Behandlung; am 16. nach dem Bisse stellte sich eine Paralyse der unteren Extremitäten und des Rückens ein; darauf verbreitet sich die Paralyse auf die oberen Extremitäten und auf die Brustmuskulatur. Am. 4. Tage der

1) Simon, Ueber Lähmungen im Verlaufe der Tollwutschutzimpfung. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 68. H. 1.)

2) Zitiert nach Simon.

3) Babes et Mironescu, La paraplegie ascendente mortelle, survenue après le traitement antirabique. (Compt. rend. Soc. de Bact. T. 64.)

4) Zitiert nach Simon. Fall 74.

5) Babes, Bemerkungen über atypische Wutfälle. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 69.)

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 14:43 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Erkrankung kommt eine Blasen- und Mastdarmparalyse hinzu. Tod am 5. Tage. Kaninchenimpfung resultatlos.

Fall von Babes[1]):

Ein an der Hand Gebissener erkrankte am letzten Tage der Behandlung, am 19. Tage nach dem Bisse, an Beinschwäche und allgemeinem Unwohlsein. Darauf entwickelte sich bald eine akute, aufsteigende Paralyse. Tod am 4. Tage. Die Obduktion erwies das Vorhandensein einer Myelitis. Negrische Körperchen sind nicht gefunden worden. Kaninchenimpfung mit negativem Resultat.

2 Fälle von aufsteigender Paralyse von Nitsch[2]) und Borger[3]) mit letalem Ausgang blieben ohne Obduktion.

Wir sehen also, daß bis jetzt nur 9 Fälle von akuter, aufsteigender Paralyse nach Präventivimpfungen bekannt sind, bei denen Leichenschau und Kaninchenінfektion vorgenommen wurden. 5 von diesen Fällen gehören Bareggi. Sie stammen aus dem Jahre 1889 und waren in der Literatur wenig bekannt, weil sie in einer italienischen Zeitschrift beschrieben worden waren und darüber nur ein kurzes Referat im Jahresbericht vom Baumgarten existierte. Durch Simon, der sich das Original verschaffte, sind erst die näheren Umstände dieser interessanten Fälle bekannt geworden.

Das klinische Bild sowohl der Fälle von Bareggi, als auch der von Babes und meines Falles ist ganz dasselbe.

Nur in einem Punkte sind sie merkwürdigerweise verschieden. Während die Kaninchen bei Bareggi und bei mir alle an Tollwut mit kurzer Inkubationszeit erkrankten, blieben die von Babes gesund.

Interessant ist der von França[4]) beschriebene Fall von Athias. Er verlief chronisch und endigte letal. Leichenschau wurde nicht vorgenommen, jedoch gelang es, die Lumbalpunktion bei dem Kranken zu machen und damit Kaninchen zu infizieren.

Es handelt sich um einen Mann, der von einem Hunde gebissen wurde, welcher auf Grund der histologischen Prüfung seines Gehirnes und der negativen Resultate der Kaninchenінfektion als nicht tollwutkrank anerkannt werden mußte. Pat. erkrankte am 12. Tage nach dem Beginn der Behandlung mittels Schutzimpfung. Die Krankheit begann mit Fieber und Kopfschmerzen. Darauf stellte sich Beinschwäche und Harn- und Stuhlretention ein, und es entwickelte sich rasch eine aufsteigende Paralyse der motorischen und sensibeln Nerven der Beine und des Rumpfes. Der Mann hatte ausgebreiteten Dekubitus, Oedeme und der Tod erfolgte nach 35 Tagen. Am 5. Tage der Krankheit wurde dem Lumbalsack Flüssigkeit entnommen und damit 2 Kaninchen unter die Dura mater infiziert. Das eine von ihnen erkrankte am 11. Tage an Tollwut. Durch das Gehirn dieses Kaninchens wurden noch 2 Kaninchen unter die Dura mater infiziert. Beide erkrankten nach 7 Tagen an Tollwut und gingen am 9. Tage nach der Infektion zugrunde.

Erwähnen wir noch der Vollständigkeit halber den Fall von Borger[5]).

Ein Mann von 35 Jahren wurde in den Finger gebissen, erkrankte am 10. Tage der Behandlung, am 24. nach dem Bisse; an Schmerzen in der Bauchgegend und im Rücken und an Parästhesien. An den 4 nachfolgenden Tagen kam Retentio urinae et alvi, Beinparese und Cystitis hinzu Tod am 10. Krankheitstage. Die Obduktion ergab Tuberkulose verschiedener Organe, Cystopyelitis und normales Rückenmark.

Die übrigen Fälle von Paralysen nach den Schutzimpfungen, die letalen Ausgang hatten, wurden entweder nicht obduziert, oder, wenn

1) Babes, Bemerkungen über atypische Wutfälle. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 69.)
2) Nitsch, Bemerkungen über die Pasteursche Methode der Schutzimpfungen gegen Tollwut. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 43.)
3) Zitiert nach Simon.
4) França, Du danger de l'emploi des moelles plus virulentes dans le traitement de la rage. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 55.)
5) Zitiert nach Simon. Fall 39.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 14:43 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

die Obduktion vorgenommen wurde, fehlte dabei die Infektion der Tiere.

Etwas abgesondert steht der Fall von J. Koch[1]) da.

Ein Mann von 25 Jahren, der von einem tollen Hunde am Finger und an der Schulter gebissen worden war, erkrankte am 12. Tage der Behandlung mit Schutzimpfungen; am 23. Tage nach dem Bisse heftige Kopfschmerzen, Rückenschmerzen, Schlaflosigkeit, Schwäche in den Beinen und hohe Körpertemperatur.

Nach 2 Tagen vollständige Paralyse der unteren Extremitäten, sowie Blasenlähmung. In den nächsten Tagen nahm die Paralyse die Form einer aufsteigenden an. Nach 7 Tagen begannen die Erscheinungen der Paralyse zu verschwinden, es entwickelte sich jedoch eine Cystitis und ausgebreiteter Dekubitus; die Temperatur nahm einen septischen Charakter an und der Kranke starb am 67. Tage an Sepsis. Bei der Obduktion fand man Meningitis serosa circumscripta. Keine Negrischen Körperchen. Mit dem Gehirne des Verstorbenen wurden intramuskulär 5 Kaninchen, 3 Ratten und 4 Hunde infiziert. Alle 5 Kaninchen gingen an Sepsis zugrunde. Eine Ratte starb nach 33 Tagen, 2 nach 34, 2 Hunde nach 118 Tagen. Mit dem Gehirne einer von diesen Ratten wurden 3 Kaninchen infiziert, die nach 45, 54 und 59 Tagen zugrunde gingen. Mit dem Gehirne eines der Kaninchen wurden 2 Kaninchen und 2 Ratten infiziert, die nach 7, 10, 39, 221 Tagen zugrunde gingen. Mit dem Gehirne einer von diesen Ratten wurden noch 2 Kaninchen infiziert, die nach 4 und 12 Tagen zugrunde gingen. Mit dem Gehirne eines der zugrunde gegangenen Hunde wurden 4 Kaninchen infiziert, die nach 8, 10, 18, 28 Tagen zugrunde gingen. Bei keinem der zugrunde gegangenen Tiere sind die Negrischen Körperchen gefunden worden. J. Koch ist der Ansicht, daß seine Tiere an sogenannter konsumptiver Tollwut zugrunde gegangen seien.

Ich gebe diesem Fall von J. Koch eine separate Stellung, weil ich den Resultaten seiner Tierversuche aus folgenden Gründen ihre Bedeutung absprechen muß: Vor allem waren die Tiere von J. Koch mit dem Gehirne eines Menschen, der am 67. Tage seiner Erkrankung an Sepsis, also zur Zeit, wo alle paralytischen Erscheinungen vorüber waren, zugrunde ging.

Es ist daher sehr zweifelhaft, daß in seinem Gehirne in dieser Zeit der Erreger der Tollwut, einerlei ob des Straßen- oder des Laboratoriumgiftes, sich befand. Die Tollwut, auch wenn sie beim Patienten von J. Koch vorhanden war, war längst vorbei, als der Tod eintrat; es blieben nur Komplikationen, die durchaus nicht identisch mit der Tollwut sind und wegen deren er starb.

Außerdem sagt J. Koch selbst, daß er bei keinem seiner Tiere klassische Symptome der Tollwut beobachten konnte. Seine Tiere gingen unter Erscheinungen der Abmagerung und allgemeiner Schwäche zugrunde. Darin sieht Verf. das Bild der „konsumptiven Tollwut". Der Begriff der „konsumptiven Tollwut" ist in der Tollwutlehre noch lange nicht festgestellt und durch die Mehrzahl der Forscher nicht angenommen worden.

Weiterhin hat J. Koch in keinem der Gehirne der infizierten Tiere Negrische Körperchen gefunden.

Endlich spricht gegen die Tollwut bei den Tieren von J. Koch die recht merkwürdige Inkubationsperiode, die zwischen 7 und 221 Tagen schwankt. Für die „konsumptive Tollwut", wie sie von den Autoren beschrieben ist, d. h. für die Tollwut, die durch abgeschwächtes Gift hervorgerufen wird, ist eine lange Inkubationsperiode charakteristisch, während bei J. Koch 1 Kaninchen der 2. Passage nach einer Inkubationsperiode von 8 Tagen, 3 nach einer Periode von 10 Tagen und 2 nach einer solchen von 12 Tagen zugrunde gingen. Ein Kaninchen der

1) Koch, J., Ueber die Entstehung der akuten Paraplegie nach Lyssainfektion. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 64.)

Generated on 2019-09-15 14:43 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

3. Passage von der Ratte ging nach einer Inkubationsperiode von 7 Tagen zugrunde, das andere in 10 Tagen und das 3. am 221. Tage.

Auf Grund der angeführten Momente glaube ich, daß die so gründliche Untersuchung von J. Koch keine Bedeutung hat für die Lösung der Frage über die Ursachen der Paralyse bei seinen Patienten.

Es existieren in unserer Zeit 3 Haupttheorien für die Erklärung der Aetiologie der Paralysen nach den Pasteurschen Schutzimpfungen. Die eine Theorie, deren Hauptverteidiger J. Koch ist, hält diese Paralysen für die Aeußerung der durch Straßenvirus hervorgerufenen Tollwuterkrankung, nur von schwächerer, weniger typischen Form.

Die andere Theorie, die von Babes vertreten wird, sieht die Ursache dieser Paralysen in der Wirkung des Tollwuttoxins, welches bei Schutzimpfungen zusammen mit der Heilemulsion eingeführt wird. Die dritte Theorie endlich, die gleich beim Beginne der Einführung in die Praxis der Pasteurschen Schutzimpfungen entstanden war und seitens der Anhänger dieser Heilmethode heiß bestritten wurde, schreibt diese Paralysen der Infektion durch das fixe Laboratoriumsvirus, das den Patienten zu Heilzwecken injiziert wird, zu.

Es ist in praktischer Beziehung sehr wichtig, die Frage zu lösen, welche von diesen Theorieen am meisten der Wirklichkeit entspricht. Nicht weniger wichtig ist auch in theoretischer Beziehung die Lösung der Frage über die Virulenz des fixen Virus für den Menschen, ob nämlich wirklich das fixe Virus für den Menschen nicht virulent ist, wie die Mehrzahl der Forscher annimmt.

Wenn die Theorie von J. Koch zu Recht besteht, sind die Pasteurschen Schutzimpfungen, wenn sie auch noch so intensiv sind, für den Menschen gänzlich unschädlich, da die Paralysen gemäß dieser Theorie in keiner Beziehung zu den Schutzimpfungen stehen. Die zweite und die dritte Theorie bringen die Paralysen in Abhängigkeit von den Schutzimpfungen, aber mit dem Unterschiede, daß der zweiten Theorie zufolge dieselben als Folge der Intoxikation und nach der dritten als Folge der Infektion durch das fixe Virus in Erscheinung treten.

Vor allem kann ich der Meinung von J. Koch[1]) über die Entstehung der Paralysen nach den Schutzimpfungen nicht beistimmen. J. Koch hält diese Fälle für die Aeußerung der abortiven, atypischen Erkrankung an Straßentollwut des Menschen, analog jenen Fällen, die nach den Beobachtungen von J. Koch bei Tieren, Hunden und Kaninchen, vorkommen.

Wenn man die Fälle dieser Paralysen, soweit sie in der Literatur bekannt geworden sind, analysiert, so sprechen sehr viele von ihnen entschieden gegen die Erklärung von J. Koch.

Vor allen Dingen gibt es Fälle von Paralysen nach Schutzimpfungen, die bei Leuten vorgenommen sind, welche von Hunden gebissen wurden, die später als nicht tollwutkrank sich zeigten.

Das sind die Fälle von Sabarthez[2]), von Brault[3]), Dark-

1) Koch, J., Ueber abortive Tollwut. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 64.) — Zur Kenntnis atypischer Tollwutfälle. (Ibid. Bd. 67.) — Ueber die Entstehung der akuten Paraplegie nach Lyssainfektion. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 64.)

2) Zitiert nach Simon, Fall 10.

3) Zitiert nach Simon, Fälle 23, 24.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 14:43 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

schewitz[1]), Tonni[2]), Borger[3]), Chailloud[4]), Nedrigailow und Ostrjanin[5]), Imredy[6]), França[7]): Im ganzen 10 Fälle.

J. Koch behauptet, daß der gesunde Zustand des Hundes die Möglichkeit der gewesenen Erkrankung nicht ausschließt, weil seiner Ansicht nach die Hunde von der Wutkrankheit genesen können. Zum Beweise dieser Behauptung führt er seine Versuche an Kaninchen und Hunden an, aus denen zu ersehen sei, daß in Ausnahmefällen bei den Tieren die Erscheinungen der Tollwut vorübergehen können. Bezüglich der Möglichkeit der Genesung der tollwutkranken Hunde habe ich keine Erfahrung; was aber die Kaninchen anbetrifft, so muß ich sagen, daß die große Praxis des Charkower Pasteurschen Instituts keinen einzigen Fall geliefert hat, wo die unter die Dura durch das Gehirn des zweifellos tollwutkranken Tieres (d. h. eines solchen, bei dem Negrische Körperchen vorhanden waren) infizierten Kaninchen nicht erkrankten oder nach der Erkrankung genesen wären.

Nehmen wir jedoch an, daß J. Koch recht hat und daß ein tollwutkranker Hund genesen kann und daß deswegen die von mir angeführten Fälle nicht zum Beweise der Unmöglichkeit der Infektion der gebissenen Menschen dienen können.

Es gibt aber Fälle, wo die Möglichkeit irgendeiner derartigen Infektion gänzlich ausgeschlossen ist, wo es überhaupt keinen Biß gegeben hatte, wo die Leute ausschließlich aus Aengstlichkeit sich der Behandlung unterzogen hatten, und wo dessenungeachtet Lähmungserscheinungen aufgetreten waren.

Diese Fälle sind folgende:

5 Fälle von Borger (Weltevreden).

1) Ein Arzt[8]), der nie von einem Hunde gebissen worden war, unterzog sich vorsichtshalber, da er im Pasteurschen Institute beschäftigt war, der Vaccination und erkrankte am 13. Tage nach dem Beginn der Impfungen an Kopfschmerzen, Blasenschwäche und Beinschwäche. Genesung nach 7 Tagen.

2) Ein 37-jähriger Mann[9]), nie von einem Hunde gebissen, sondern nur mit einem tollen Hunde in Berührung gekommen, erkrankte am 16. Tage der Behandlung mit Schutzimpfung an Parästhesien beider Beine und der rechten Hand, sowie an Schmerzen in den Beinen und Armen und an Paralyse des Nervus facialis. Genesung nach 3 Wochen.

3) Ein Mann von 53 Jahren[10]), Neurastheniker, auch nicht gebissen, sondern nur in Berührung mit einem tollen Hunde gekommen. Erkrankte am 14. Tage der Behandlung. Er hatte plötzlich aufgehört, mit dem linken Auge deutlich zu sehen; Skotom, Unbeweglichkeit des Kiefers; Genesung nach 3 Tagen.

4) Ein Mann von 43 Jahren[11]), Trinker, nicht gebissen, sondern nur in Berührung gekommen mit einem tollen Hunde, erkrankte am 13. Tage der Behandlung an heftigem Fieber und Beinparese. In den nächsten 3 Tagen entwickelte sich eine Paraplegie der unteren Extremitäten, Blasenparalyse, Schmerzen im Rücken und in den Schultern, Nackenstarre. Tod am 5. Tage der Erkrankung. Die Leiche wurde nicht obduziert.

1) Darkschewitz, Zur Frage der Lähmungserscheinungen bei Pasteurschen Impfungen. (Neurol. Centralbl. Bd. 17.)

2) Zitiert nach Remlinger, Ann. Inst. Pasteur. 1905.

3) Zitiert nach Simon, Fall 50.

4) Zitiert nach Simon, Fall 58.

5) Nedrigailow u. Ostrjanin, Zur Frage über die Gründe der Paralysen bei der Pasteurschen Vaccination. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 39.)

6) Zitiert nach Simon, Fall 78.

7) Du danger de l'emploi des moelles plus virulentes dans les traitement de la rage. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 55.)

8) Zitiert nach Simon, Fall 46.

9) Zitiert nach Simon, Fall 51.

10) Zitiert nach Simon, Fall 52.

11) Zitiert nach Simon, Fall 67.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 14:43 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

5) Ein Arzt, 22 Jahre alt[1]), machte sich vorsichtshalber Schutzimpfungen, da er im Pasteurschen Institute beschäftigt war. Er erkrankte 7 Tage nach dem Schlusse der Behandlung. Rasch trat die Blasen- und Mastdarmparalyse auf, es entwickelte sich aufsteigende Paralyse, Nackenstarre und Schlaflosigkeit. Genesung nach 3 Wochen.

6) Der Fall von Pfeilschmidt[2]). Ein Studierender der Veterinärkunde entschloß sich, Präventivimpfungen sich zu unterziehen, da er einen tollen Hund obduziert hatte, obgleich er dabei sich keine Verwundung zugezogen hatte. Er erkrankte am 10. Tage der Behandlung; es stellten sich in den Beinen und in der Lumbalgegend Schmerzen ein; erhöhte Patellarreflexe, Urinretention; darauf entwickelte sich beiderseitige Facialisparalyse. Nach 17 Tagen begann die Genesung.

Wir haben hier also 6 Fälle, wo die Möglichkeit der Ansteckung durch das Tollwutgift von einem Hunde ausgeschlossen ist und wo die Lähmungserscheinungen nach den Schutzimpfungen aufgetreten sind.

Besonders demonstrativ in diesem Sinne sind die 2 Fälle von Borger, wo 2 Aerzte, die weder von einem tollen Hunde gebissen, noch mit einem verdächtigen Tiere in Berührung gekommen waren, an schweren Lähmungserscheinungen nach den Impfungen erkrankt waren.

Weiterhin spricht gegen die Erklärung von J. Koch die Dauer der Inkubationperiode bei den Paralysen, die in der Mehrzahl der Fälle bedeutend kürzer ist, als bei der Wutkrankheit. Wenn die Erklärung von J. Koch richtig wäre, so hätte man das Gegenteil zu erwarten, da nach ihm diese Paralysen als Folge der Infektion durch das abgeschwächte Tollwutgift in Erscheinung treten.

Nach meiner Statistik[3]) begegnet man am meisten, nämlich in 65 Proz. aller Fälle, einer Inkubationsperiode von 20—60 Tagen; nach einer Periode von unter 20 Tagen erkrankten an Wutkrankheit nur 13,7 Proz. Die kürzeste der im Laufe von 25 Jahren von mir registrierten Inkubationsperioden war eine von 12 Tagen.

Jedoch erscheinen gemäß den Feststellungen von Simon die Paralysen nach den Wutschutzimpfungen in 56 Proz. der Fälle vor dem Ablauf von 20 Tagen nach dem Hundebisse; vor dem Ablaufe von 30 Tagen nach dem Bisse erkrankten an Paralysen 89,38 Proz. Endlich haben wir 1 Fall von Paralyse nach den Schutzimpfungen, wo die Inkubationsperiode, vom Tage des Bisses gerechnet, 10 Tage betrug [Fall von Poscarin[4])], also eine solche, wie sie bis jetzt noch nie bei genuiner Lyssa des Menschen registriert worden ist. Die kurze Inkubationsdauer bei den Paralysen nach der Vaccination spricht mit voller Bestimmtheit dafür, daß es sich hier nicht um die Infektion durch Straßengift handeln kann.

In seinem letzten Artikel[5]) besteht J. Koch nicht mehr so kategorisch, wie in den früheren, auf seiner Erklärung der in Rede stehenden Paralysen. Nachdem ihm der Fall von França bekannt geworden ist, läßt er für die Erklärung dieser Paralysen beim Menschen außer der Infektion durch Straßengift auch die Möglichkeit der Infektion durch Laboratoriumsgift zu.

Babes meint, daß diese Paralysen infolge der Intoxikation durch das Tollwuttoxin, das mit der Heilemulsion eingeführt wird, entstehen.

1) Zitiert nach Simon, Fall 84.

2) Pfeilschmidt, Zur Kenntnis der Erkrankungen des Nervensystems bei Wutschutzimpfungen. (Neurol. Centralbl. Bd. 27.)

3) Kozewalow, S., Die Mortalität und Inkubationsdauer bei Rabies der Menschen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. 1. Orig. Bd. 57.)

4) Zitiert nach Simon, Fall 30.

5) Koch, J., Ueber die Entstehung der akuten Paraplegie nach Lyssainfektion. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 64.)

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 14:43 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Seine Theorie gründet er hauptsächlich auf den Umstand, daß Kaninchen, die durch die Gehirne der an Lähmungserscheinungen zugrunde gegangenen Menschen infiziert waren, nicht an Tollwut erkrankten. Es sind im ganzen in der Literatur, abgesehen von dem Falle von J. Koch, 10 letale Fälle beschrieben worden, wo die Infektion der Kaninchen durch das Gehirn der Menschenleiche herbeigeführt wurde, nämlich die 4 Fälle von Babes mit dem negativen Resultate der Kaninchen-infektion, 5 Fälle von Bareggi mit positivem Resultat und der von mir oben beschriebene Fall mit ebenso positivem Resultat. Hierher ist auch der von França beschriebene Fall zu rechnen, wo die Infektion durch die Cerebrospinalflüssigkeit des Kranken zu einem positiven Resultate führte. Den Fall von J. Koch rechne ich nicht in diese Kategorie, bei dem der Kranke an Sepsis am 80. Tage der Erkrankung zugrunde gegangen war, ebenso nicht den Fall von Borger, wo bei der Obduktion Tuberkulose der inneren Organe und eine Cystopyelitis festgestellt wurden.

Ich kann keine Erklärung finden, warum die Resultate der Kaninchen-infektion bei Babes negativ ausfielen, während sie bei mir, bei Bareggi und bei França positiv waren, obgleich das klinische Bild in allen Fällen ganz dasselbe war.

Auf die Fälle von Bareggi, von França und hauptsächlich auf den von mir beschriebenen Fall mich stützend, glaube ich, daß es als feststehend betrachtet werden darf, daß die Intoxikation nicht als die Ursache der Paralysen nach den Schutzimpfungen zu gelten hat; es handelt sich dabei zweifellos um das Passagevirus der Tollwut.

Im Sinne eines indirekten Beweises dieser Entstehungsursache können folgende Fälle dienen, die im Jahre 1909 im Charkower Pasteur-Institut beobachtet wurden, leider ohne jemals beschrieben worden zu sein: Im Beginne jenes Jahres wurde im Charkower Pasteur-Institute die Methode der Behandlung mit den Schutzimpfungen ein wenig geändert. Man fing nämlich auf Grund der Arbeiten, in welchen die Nichtvirulenz des fixen Virus für den Menschen behauptet wurde, sowie in Berücksichtigung der Praxis der deutschen Pasteur-Institute, hier an, den Gebissenen das Mark 1-tägiger Trocknung einzuführen, während man sich früher mit einem solchen von 2-tägiger Trocknung begnügte. Bald darauf begann man bei vielen Patienten (ihre Zahl ist leider nicht registriert worden; es waren aber nicht weniger als 20 Menschen im Laufe 1 Monats) leichte paretische Erscheinungen zu bemerken, die als Parese bald einer Hand, bald eines Beines sich manifestierten, oder als leichte Paraplegie, als Parese des Nervus facialis, oder als unvollständige Urinretention. Diese paretischen Erscheinungen gingen nach 1—2 Tagen vorbei. Man hörte nun auf, 1-tägiges Mark zu gebrauchen, und Erkrankungen kamen nicht mehr vor. Die oben angeführten Erscheinungen darf man selbstverständlich nicht durch Intoxikation erklären, da, wie ich glaube, die Toxine des 1-tägigen und des 2-tägigen Markes identisch sind.

Es fragt sich nun, wie es kommt, daß man in den deutschen Pasteur-Instituten, welche in großen Quantitäten 1-tägiges Mark einführen, derartige Erscheinungen nicht beobachtet. Das kann man selbstverständlich nur durch die Verschiedenheit der Qualitäten des fixen Virus des Charkower und der deutschen Pasteur-Institute erklären. Die Frage über die Differenz des fixen Virus verschiedener Institute ist noch wenig studiert worden, obschon man diese Verschiedenheit als feststehend betrachten müßte. So hatte sich Ungleichheit der Virulenz

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 14:43 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

des fixen Virus verschiedener Institute bei subkutaner Infektion von Mäusen und Ratten geäußert. Das fixe Virus von Sassari tötet ausnahmslos sämtliche Mäuse und Ratten, die subkutan infiziert werden[1]), während das fixe Virus von Rom und Turin dieselben nur in 60 Proz. tötet, das fixe Virus von Florenz in 36 Proz.; das von Bologna und Mailand bei subkutaner Infektion von Mäusen und Ratten zeigte überhaupt keine Virulenz[2]). Das fixe Virus von Berlin[3]) tötet 50 Proz. weißer Mäuse, 33 Proz. weißer Ratten und 20 Proz. grauer Mäuse, das fixe Virus von Paris aber tötet 20 Proz. der infizierten Tiere[4]).

Kraus und Fukuhara[5]) fanden, daß das fixe Virus von Kiew, Odessa und Krakau bei subkutaner Einführung für Tiere virulent ist, das fixe Virus von Wien, Bukarest und Budapest dagegen unvirulent.

Also kann ich bezüglich der Ursachen der Paralysen nach den Pasteurschen Präventivimpfungen weder Babes noch J. Koch zustimmen.

Unseren Fall analysierend, müssen wir selbstverständlich eine Intoxikation im Sinne von Babes ausschließen. Die Ursache der Erkrankung unserer Patientin, einer Erkrankung, die rapid zum Tode führte, war zweifellos eine Infektion, deren Beweis in den 3 Passagen besteht, die durch die Kaninchen geführt wurden, welche eine Erkrankung vom ausgeprägten Typus der paralytischen Tollwut mit einer Inkubationsperiode von 6—7 Tagen, d. h. einer solchen, wie sie Kaninchen eigen ist, die mit dem Charkower fixen Virus infiziert werden, darboten. Folglich ist unsere Patientin an einer Tollwutinfektion gestorben, und zwar an einer durch Laboratoriumsgift der Tollwut (fixes Virus). Dafür spricht die kurze Inkubationsperiode, bei welcher die mit ihrem Gehirn infizierten Kaninchen erkrankten, sowie auch die Abwesenheit der Negrischen Körperchen sowohl in dem Gehirn der Gestorbenen als auch in den Gehirnen aller 24 Kaninchen, die an Tollwut infolge einer Infektion durch ihre Gehirne zugrunde gegangen waren. Eine fremde, durch Schutzimpfungen übertragene und im Gehirn der Patientin zur Entwickelung gekommene Infektion kann vollständig ausgeschlossen werden. Die Emulsion, welche aus dem Gehirn der Gestorbenen bei Züchtung auf den Nährböden bereitet wurde, zeigte sich vollkommen steril, ebenso wurden keine Mikroorganismen im Blute der nach der Infektion durch diese Emulsion zugrunde gegangenen Kaninchen gefunden. Als indirekter Beweis gegen eine Möglichkeit irgendeiner fremden Infektion in diesem Falle dient der Umstand, daß in dem Charkower Pasteur-Institut bei der Obduktion der an Tollwut zugrunde gegangenen Kaninchen stets ein Stückchen Rückenmark auf Bouillon gezüchtet wird, und, falls die Bouillon darauf eine Trübung zeigt, das ganze Mark weggeworfen wird. Nachdem die Rückenmarkemulsionen zum Zwecke der Schutzimpfungen für die Patienten zubereitet sind, werden dieselben außerdem auf Agar-Agar gesät und auf diese Weise ihre Sterilität geprüft.

1) Fermi, Die Empfindlichkeit der Mäuse der subkutanen Wutinfektion gegenüber. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 43.)

2) Fermi, Ueber die Differenz in der Virulenz des fixen Virus von verschiedenen antirabischen Instituten. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 43.)

3) Schindler, Ueber Tollwutimpfungen an Mäusen. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 61.)

4) Marie, Bull. de l'Inst. Pasteur. 1908. No. 7.

5) Kraus u. Fukuhara, Ueber das Lyssavirus Fermis. (Wien. klin. Wochenschrift. 1908. No. 79.)

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 14:43 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Sowohl auf Grund meines Falles wie auch der von Bareggi und França komme ich daher zu der Ueberzeugung, daß die Ursache der Paralysen nach den Schutzimpfungen in einer Infektion durch das fixe Laboratoriumsvirus der Tollwut besteht, welches zu Heilzwecken gebraucht wird. Zu dieser Anschauung neigt in der letzten Zeit übrigens auch Müller[1]).

Eine derartige Erklärung steht im Gegensatz zu der bis jetzt herrschend gewesenen Meinung der Mehrzahl der Forscher über die Nichtvirulenz des fixen Virus der Tollwut für den Menschen. Bekannt sind die Versuche von Marx, Nitsch, Proescher, Ferrán, welche die Nichtvirulenz des fixen Virus bewiesen haben. Die Versuche von Marx an Affen und die von Nitsch und Proescher an Menschen können in Anbetracht ihrer geringen Zahl nicht als Beweis der Unschädlichkeit des fixen Virus dienen. Ebenso kann auch die Praxis jener Pasteur-Institute, in denen für die Schutzimpfungen das frische oder wenig abgeschwächte fixe Virus in Gebrauch ist (Ferrán und seine Nachfolger, Proescher, Babes, deutsche Pasteur-Institute), nicht als Beweis für die volle Unschädlichkei, des fixen Virus für den Menschen herangezogen werden, weil alle oben genannten Pasteur-Institute Fälle von Lähmungen nach Präventivimpfungen aufzuweisen haben.

Nach unseren jetzigen Erfahrungen müßte man zu folgender Annahme kommen: Das fixe Virus der Tollwut ist subkutan angewendet für den Menschen ein sehr abgeschwächtes Gift, das je nach der Veranlagung des Patienten in sehr seltenen Fällen eine Tollwutinfektion hervorrufen kann. Dafür, daß dieses Virus ein sehr abgeschwächtes Gift für den Menschen darstellt, spricht vor allen Dingen die Seltenheit der durch dasselbe hervorgerufenen Infektionen (0,48 pro mille), andererseits aber auch die Genesung in der Mehrzahl der Fälle.

In der Praxis kann diese Anschauung weder von großem Einfluß sein, noch auch die Bedeutung der Pasteurschen Vaccination erschüttern, da Paralysen nach Schutzimpfungen eine ungemein seltene Komplikation darstellen. Trotzdem darf man nicht außer acht lassen, daß das fixe Virus eine Tollwutinfektion beim Menschen hervorrufen kann, und daß deswegen in dem Bestreben zur Erlangung einer möglichst großen Intensität der Behandlung mit Sehutzimpfungen doch eine gewisse Vorsicht angezeigt ist. Es besteht außerdem die Notwendigkeit zur detaillierten Erforschung der Qualitäten des fixen Virus jedes Pasteur-Instituts; die Kenntnis dieser Qualitäten bedingt die eine oder andere Art der Behandlung.

Schlußfolgerungen.

1) Obgleich man das fixe Virus der Tollwut als ein sehr abgeschwächtes Gift zu betrachten hat, kann es doch, wenn auch in sehr seltenen Fällen, eine Tollwutinfektion beim Menschen hervorrufen.

2) Die Ursache der Lähmungen, die im Laufe der Pasteurschen Vaccination sowie nach derselben auftreten, ist das fixe Virus der Tollwut.

3) Obgleich diese Lähmungen in Anbetracht ihrer Seltenheit keinen Einfluß auf die Praxis der Pasteurschen Präventivimpfungen haben

1) Müller, Ueber akute Paraplegieen nach Wutschutzimpfungen. (Dtsche Zeitschrift f. Nervenheilk. Bd. 34.)

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 14:43 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

können, darf man doch nicht bei der Anwendung der virulenten Marksubstanz ohne jede Vorsicht vorgehen.

4) Es ist erforderlich, das fixe Virus jeder Pasteurschen Impfstation einer detaillierten Untersuchung zu unterziehen zwecks der Feststellung der einen oder der anderen Art der Behandlung mit Präventivimpfungen.

Nachdem mein Artikel bereits an die Redaktion vom Centralbl. f. Bakt. etc. abgesandt war, kamen mir noch 3 Arbeiten von Jochmann, Sterling und Goldberg und Oszesalski zu Gesicht, die alle im Jahre 1913 erschienen sind und dasselbe Thema berühren, wie ich.

Auf Grund der von Simon angeführten Fälle, bei welchen Lähmungen bei solchen Menschen beobachtet worden sind, die von wutkranken Tieren gar nicht gebissen worden waren, kommt Jochmann[1]) zu dem Schlusse, daß die Infektion der Menschen mit dem Virus fixe wohl möglich ist, daß aber größtenteils die Lähmungen direkte Folgen des Straßenvirus sind. In Uebereinstimmung mit Koch bezeichnet Jochmann diese Fälle als atypische Lyssaerkrankungen.

Sterling[2]) teilt 2 Fälle von Lähmungen nach der Schutzimpfung mit; der eine wurde im Warschauer Pasteur-Institut von Dr. Palmirski beobachtet, der andere stammte aus dem Vilnauer Pasteur-Institut, und zwar aus der Praxis von Dr. Orlovski.

Die beiden Fälle verliefen chronisch unter dem Bilde der Paraplegie mit Blasen-, Mastdarm- und Facialislähmungen.

Sehr charakteristisch für diese Erkrankungen waren auch die scharf ausgeprägten meningealen Symptome.

Der Autor gibt ein sehr ausführliches klinisches Bild von diesen beiden Fällen, deren Ursache er in der Infektion mit dem abgeschwächten Virus fixe bei Schutzimpfungen der Patienten sieht.

Indem Sterling die hierzu gehörige Literatur vorführt, zitiert er einen wenig bekannten Fall von Hudovernig[3]). Ein Tagelöhner wurde im Abort von einer Ratte gebissen und deswegen in Budapest nach der Högyesschen Methode geimpft. Nach Beendigung der Kur erkrankte er sofort an Polyneuritis. Nach 1 Jahre sah ihn Hudovernig wieder; der Kranke bot das typische Bild der chronischen Polyneuritis.

In diesem Falle ist die Aetiologie der Krankheit an und für sich sehr interessant, da hier die Infektion mit Hundetollwut ausgeschlossen ist; man kann doch kaum annehmen, daß Patient von einer tollen Ratte gebissen worden ist. Das Krankheitsbild (Polyneuritis) und die lange Dauer der Krankheit (über 1 Jahr) zeichnen diesen Fall vor sämtlichen anderen aus.

Vor kurzem haben Goldberg und Oszesalski[4]) einen sehr belehrenden Fall mitgeteilt. Ein 13-jähriger Knabe wurde am 11. Juni von einem unbekannten Hunde in die Hand gebissen. Im Laufe der nächsten 4 Tage (am 12., 13., 14. und 15. Juni) bekam er 6 Schutz-

1) Jochmann, Ueber atypische Lyssaerkrankungen und ihre Beziehungen zur Wutschutzimpfung. (Dtsche Zeitschr. f. Nervenheilk. Bd. 47 u. 48.)

2) Sterling, Ueber die akuten paralytischen Syndrome nach Wutschutzimpfungen. (Zeitschr. f. ges. Neurol. u. Psych. Bd. 17. H. 2 u. 3.)

3) Autoreferat im Neurol. Centralbl. 1912. No. 18.

4) Goldberg u. Oszesalski, Ein Fall von Lyssa mit meningitischen Symptomen. (Wien. klin. Wochenschr. 1913. No. 48.)

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 14:45 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

impfungen in der Warschauer Schutzimpfstation, unterbrach darauf aber die Behandlung und begab sich zu Fuß nach Hause, wobei er 200 km zurücklegte. Am 24. Juni, also 13 Tage nach dem Bisse und 12 Tage nach der ersten Impfung, fühlte er sich plötzlich unwohl und klagte über Schüttelfröste, Schmerzen im Kopfe und in den Extremitäten, sowie über Erbrechen. Er wurde in das Warschauer Krankenhaus übergeführt, wo seine Krankheit unter den Zeichen einer Meningitis verlief: Gesteigerte Temperatur, starkes Kopfweh, vorzugsweise im Hinterhaupte, Schmerzen im Genick, in der Wirbelsäule und in den unteren Extremitäten; Opistotonus; die Bewegungen des Kopfes waren beschränkt, Hydro- und Aerophobie fehlten. Von Lähmungen war nur die Ptosis vorhanden. Die bakteriologische Untersuchung der durch eine Lumbalpunktion gewonnenen Flüssigkeit erwies sich negativ.

Der Tod erfolgte am 29. Juni unter den Zeichen der Lähmung des Atemzentrums. Bei der Sektion lautete die pathologisch-anatomische Diagnose folgenderweise: Meningitis cerebrospinalis acuta, serosa; histologisch wurde eine Meningomyelitis diagnostiziert. Dabei konnte festgestellt werden, daß die Veränderungen der Dura mater sekundär waren und daß die Primärerkrankung das Gehirn und Rückenmark angegriffen hatte. Negrische Körperchen waren nicht nachweisbar. Die Infektion von Kaninchen mit dem Rückenmarke des Gestorbenen rief bei diesen paralytische Tollwut hervor. Die Tiere gingen 7—8 Tage nach der Infektion zugrunde. Leider sagt Verf. kein Wort über die Art des Markes, mit welchem der Knabe geimpft worden war.

Ich halte den Fall von Goldberg und Oszesalski für eine Infektion des Menschen mit dem Virus fixe der Tollwut, verursacht durch die Schutzimpfung. Dafür sprechen 1) die Kürze der Inkubation: der Knabe erkrankte 13 Tage nach dem Bisse, 12 Tage nach der ersten und 8 Tage nach der letzten Impfung. Wahrscheinlich fand die Infektion infolge der letzten Impfung statt, wo dem Pat. Impfstoffe von der größten Virulenz einverleibt wurden; 2) die Abwesenheit der Negrischen Körperchen im Gehirne des Gestorbenen, und 3) die Dauer der Inkubationszeit bei den Kaninchen, die der Infektion erlagen (7—8 Tage von dem Momente der Infektion bis zum Tode, d. h. 6—7 Tage bis zum Anfange der Erkrankung).

Aus welchem Grund fand nun in diesem Falle die Infektion mit dem Virus fixe statt? Nach meiner Ansicht könnte man diese Erscheinung auf die Ueberanstrengung des Knaben zurückführen, der zu Fuß 200 km zurücklegen mußte.

Ich halte den Fall von Goldberg-Oszesalski für eine neue Bestätigung der Ansicht, daß man mit dem zur Schutzimpfung verwendbaren Virus fixe bei dem Menschen eine Erkrankung hervorrufen kann, welche sich entweder durch Lähmungen der unteren Extremitäten, oder eine Paralysis ascendens, oder durch Lähmungen einzelner Nerven (vorzugsweise des Nervus facialis), oder eine chronische Polyneuritis, oder endlich (wie im Falle von Goldberg und Oszesalski) durch eine akute Encephalitis und Myelitis ohne typische Lähmungen offenbart.

Generated on 2019-09-15 14:45 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Nachdruck verboten.

Beiträge zur Frage der Eosinophilie.

[Aus dem Bakteriologischen Laboratorium des Ministeriums des Innern in Tschita.]

Von Dr. **I. S. Dudtschenko.**

I.

Im Knochenmark eines der zahlreichen kleinen Nagetiere[1]), die im Transbaikalschen Gebiet heimisch sind, fanden sich Eosinophile, die nicht nur gewöhnliche, runde, eosinophile Körner von verschiedener Größe hatten, sondern auch eosinophile Gebilde aufwiesen, welche die Form von Stäbchen oder Reiskörnchen hatten.

Bekanntlich wird die stäbchen- und reiskornförmige Eosinophilie ziemlich häufig im Vogelblute beobachtet, und zwar sowohl im peripherischen, als auch im Blute der inneren Organe und des Knochenmarks. Nach meinen Beobachtungen tritt die stäbchen-reiskornförmige Eosinophilie im Blute von Vögeln, die schlecht ernährt sind und in einem ungewohnten hygienischen Milieu leben, auf. So beobachte ich beispielsweise gegenwärtig die erwähnte Eosinophilie im Blute einer Möve, welche mit Rindfleisch ernährt wird, während die gewöhnliche Nahrung der Möven dieser Art aus kleinen Fischen besteht. — Bei Hühnern, welche in engen, schmutzigen Ställen überwintern und ungenügend ernährt werden, kann gegen Ende des Winters eine skorbutähnliche Erkrankung eintreten (Blutarmut, schmerzhafte Oedeme der Extremitäten). In diesem Zustande tritt, wie die Beobachtungen ergeben haben, sehr häufig reichliche stäbchen-reiskornförmige Eosinophilie im Blute der erkrankten Hühner auf.

In dem Werke „Blutmorphologie der Laboratoriumstiere" von C. Klingenberg und W. Carl (Leipzig 1912) sind verschiedene Arten von Eosinophilie im Blute sowohl von Vögeln als auch von Säugetieren angegeben. Im bezeichneten Werke wird aus mir unbekannten Gründen die stäbchen-reiskornförmige Eosinophilie als Pseudoeosinophilie bezeichnet. Meiner Meinung nach dürfte dies kaum zutreffen, weil die Eosinophilie ein gleichartiger Prozeß ist. Im bezeichneten Lehrbuch sind Abbildungen, sowie die Beschreibung der stäbchen-reiskornförmigen Eosinophilie nur im Blute von verschiedenen Vögeln enthalten, ohne daß auch nur angedeutet wird, daß die stäbchen-reiskornförmige Eosinophilie auch im Blute von Säugetieren vorkommen kann.

Aus diesem Grunde hielt ich mich für verpflichtet, über die Auffindung von stäbchen-reiskornförmiger Eosinophilie auch im Blute von Säugetieren Mitteilung zu machen.

II.

In dem mir unterstellten Laboratorium wurde aus den Organen von an einer natürlichen Infektion zugrunde gegangenen weißen Ratten eine

1) Die betreffende Säugetierart erinnert ihrem Aussehen nach teils an die Feldmaus, teils an die kleinere Art von Hamstern; die Länge des Körpers vom Schwanzansatz bis zum Hinterhaupt beträgt 5 cm, die Länge des Schwanzes 1½ cm. Die Farbe des Felles ist dunkelbraun, mit schwarzen Streifen auf dem Rücken; die Tiere haben auch Backenbeutel.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 14:45 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Reinkultur von doppelten, kurzen, dicken Bacillen gewonnen, welche bei weißen Ratten eine sehr langwierige (bis zur Dauer von 6 Monaten) Pneumonie hervorriefen, welche zur Folge hatte, daß ganze Lungenlappen sich in mit rahmartigem, mikroskopisch formlosem Detritus ausgefüllte Säcke verwandelten. Die isolierte Kultur[1]) ruft bei weißen Mäusen eine akut (in 2—5 Tagen) verlaufende Septikämie (im Blute Bacillen) mit hochgradiger Vergrößerung der Leber und der Milz und bisweilen mit im Lungengewebe zerstreuten, blutigen Infiltraten hervor; hierbei erscheinen in der Milz und besonders in der Leber die kapseltragenden Bacillen bei allen Färbungsmethoden als sich an den Polen färbende Bacillen mit deutlich ausgeprägtem Pleomorphismus der Polmikroben. Dies alles zusammen schafft ein bakterioskopisches Bild, welches von dem bei gewöhnlicher Pest nicht unterschieden werden kann. Die Aehnlichkeit mit der Pest wird noch durch die Beulen vergrößert, welche bei den infizierten, weißen Mäusen auftreten. Bisweilen sind die Beulen mit Blut gefüllt, und nur das Fehlen von spezifischen Hämorrhagieen in den periglandulären Infiltraten und an anderen Stellen läßt an der Pestnatur dieser Beulen zweifeln, während die unmittelbare Beobachtung des Prozesses des allmählichen Ueberganges der kapseltragenden Doppelbacillen in pleomorphe, sich an den Polen färbende, pestähnliche Bacillen den Forscher sich endgültig davon überzeugen läßt, daß es sich nur um Pestähnlichkeit der beschriebenen Bacillen handelt. Für Meerschweinchen und Kaninchen ist die gewonnene Kultur nicht so pathogen wie für weiße Mäuse. Subkutan infizieren sich Meerschweinchen überhaupt nicht. Die hierbei entstehenden Infiltrate werden resorbiert. Kaninchen gehen bei intrapleuraler Infektion, bisweilen auch bei intraabdominaler, rasch zugrunde. Bei subkutaner Infektion sterben die Kaninchen gewöhnlich erst nach einigen Wochen, und fast stets an Erscheinungen von subakuter Pneumonie mit hinzutretender Septikämie (pestähnliche Bacillen im Blute).

Bei der Untersuchung von Ausstrichpräparaten aus dem blutigen Gewebssaft von infizierten Lungenteilen von Kaninchen, die an der Infektion mit der von weißen Mäusen gewonnenen Kultur zugrunde gegangen waren, sowie bei der Untersuchung ebensolcher Ausstrichpräparate aus den Lungenteilen von Meerschweinchen, die an natürlicher Infektion mit Bacillen zugrunde gegangen waren, welche an diejenigen aus der von weißen Ratten gewonnenen Kultur erinnerten (Rasse des Bact. capsulatum von Pfeiffer?), sah man auf allen diesen Ausstrichpräparaten stets eine ungewöhnlich große Anzahl von eosinophilen Leukocyten, die gewöhnlich gelappte Kerne, bisweilen aber nur einen Kern enthielten.

Die Form, die Größe und die Anzahl der einzelnen eosinophilen Körner ist sehr verschieden. Nach der Größe sind es bald Körperchen von 1—1½, bald ¼ μ und noch weniger im Durchmesser.

Die Anzahl der Körner in einem Leukocyten schwankt zwischen einigen Exemplaren (5—6) und schwer zu zählenden Anhäufungen von Körnern. Die Ränder der eosinophilen Körner sind bald eben, glatt, bald gleichsam gezackt, usuriert. Bei den Leukocyten, die nur einige Körner enthalten, erscheint der Zellkörper in Form eines farblosen, rundmaschigen, fast gleichmäßigen Netzes. Man gewinnt den Eindruck,

1) Die isolierte Kultur wird im bakteriologischen Laboratorium zu Tschita aufbewahrt und soll nach einer möglichst vollständigen bakteriologischen Untersuchung besonders beschrieben werden.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 14:45 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

als ob die eosinophilen Körner früher sämtliche Maschen dieses Netzes ausgefüllt hätten und dann aus denselben herausgefallen wären, wobei einstweilen einige eosinophile Körner in einigen Maschen zu je einem Exemplar in jeder Masche sitzen geblieben sind.

Bisweilen erscheint bei übermäßiger Färbung des Ausstrichpräparates mit Panchrom nach Pappenheim das ganze Ausstrichpräparat, besonders die Kerne der Leukocyten, blau, wobei die Eosinophilen, die zu 4—5 Stück in jedem Gesichtsfeld zu sehen sind, durch ihre hellrote Farbe hervorstechen.

Wenn das Präparat mit dem bezeichneten Farbstoff zu sehr überfärbt wurde, so wird das Ausstrichpräparat zur Aufhellung des Bildes und zur Abschwächung des blauen Hintergrundes zweimal mittels eines Wattebausches mit Alkohol abgerieben und rasch getrocknet. Die vorhandenen Eosinophilen treten dann auf dem bläulichen Gesichtsfeld deutlich in Erscheinung.

Schlüsse.

1) Allem Anschein nach hat man Grund, die eosinophile Substanz als morphologische Manifestation der Produktion von Antikörpern bei einigen Intoxikationen zu betrachten.

2) Außer den Intoxikationen, die durch Helminthiasis (Ascariden, Echinokokken, Bandwurm, Trichinen) hervorgerufen werden und das Auftreten einer mehr oder minder stark ausgeprägten Eosinophilie im Blute des erkrankten Organismus zur Folge haben, muß man auch die Intoxikation mit den kapseltragenden Doppelbacillen aus der Rasse des Bacillus capsulatus Pfeifferi (?) gleichfalls als eosinophilogene betrachten. Beim Meerschweinchen und Kaninchen begegnet man im blutigen Gewebssaft der entzündeten Lungen ungewöhnlich zahlreichen Eosinophilen.

3) Die Auffindung im Knochenmark eines Säugetieres von stäbchenreiskornförmiger Eosinophilie, die bis jetzt nur im Blute von Vögeln beschrieben worden ist, lehrt, daß die Natur und die Bedeutung der eosinophilen Körner bei Vögeln sowohl als auch bei Säugetieren dieselbe ist.

Sämtliche Präparate, welche zu dieser Arbeit gehören, werden im Bakteriologischen Laboratorium in Tschita aufbewahrt und wurden beim Studium derselben mehrere Male dem Gehilfen des Chefs des Tschitaer Bakteriologischen Laboratoriums, Dr. A. I. Winogradow, demonstriert.

Nachschrift. Der Aufsatz war bereits fertiggestellt, als ich im Knochenmark einer Fledermaus (im Marke der Flügelknochen) sehr bedeutende Eosinophilie fand. Die eosinophilen Körner hatten in diesem letzteren Falle nicht nur die Form von regelmäßigen Kugeln von verschiedener Größe, sondern auch verlängerter Gebilde in Form von Stäbchen und Reiskörnern. Somit ist bei einer weiteren Säugetierart die sogenannte Pseudoeosinophilie gefunden worden, die bei Vögeln sehr häufig vorkommt, bei Säugetieren aber augenscheinlich nicht notiert worden ist.

Generated on 2019-09-15 14:45 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Nachdruck verboten.

Einfache Plattenkulturmethode der anaëroben Bakterien.

[Aus dem Hygienischen Institut der Universität zu Tokyo.]

Von Prof. Dr. **M. Ogata** und Dr. **M. Takenouchi,** Assistenten.

Mit 2 Textfiguren.

Für Plattenkulturen der anaëroben Bakterien haben bekanntlich Gabritschewsky, Kitasato, Slupski u. a. besondere Apparate angegeben, welche uns aber wegen ihrer komplizierten Konstruktion nicht nur teuer zu sein scheinen, sondern bei denen auch auszusetzen ist, daß ein dichter Abschluß, resp. dauernde Sauerstofflosigkeit schwer herzustellen ist. Weiter braucht man beim Kitasatoschen Apparat Wasserstoffentwickelungsapparate, und es ist schwer, beim letzteren Apparat, wegen der kleinen Mündung des flachen Kolbens, die auf gewissen Stellen entwickelten Kolonieen durch den Platindraht zu fischen. Bei dem Gabritschewskyschen Apparat braucht man relativ geringe Mengen der alkalischen Pyrogallussäurelösung, was uns die Entwickelung der anaëroben Bakterien zu erschweren scheint.

Unsere unten beschriebenen Verfahren der anaëroben Bakterienkultur sind sehr einfach: Da wir bei dem ersten Verfahren nur 2 verschieden große Petrische Schalen, 1 Glasstabdreieck, 1 U-förmiges Glasrohr, Kalistange, Fließpapier sowie Pyrogallussäurelösung und flüssiges Paraffin und bei dem zweiten außerdem ein ringförmiges Glas mit Rinne und Quecksilber brauchen, so genügen für beide Verfahren also außer dem Glasring einige überall gebräuchliche Gegenstände.

1. Verfahren.

Wir haben uns zur Kultur der anaëroben Bakterien, wie Fig. 1 zeigt, zweier verschieden großer Petrischen Schalen (einer kleineren, etwa 10 cm, einer größeren, etwa 13 cm Durchmesser) bedient, indem wir die Kulturmaterialien in traubenzuckerhaltigen Gelatine- oder Agar-agar-Nährboden mischten und auf der kleineren Petrischen Schale Plattenkulturen machten. Nach dem Erstarren des Nährbodens haben wir auf dem Boden der größeren Petrischen Schale ein bis zur seitlichen Innenwand reichendes Glasstabdreieck gelegt. Dieses Dreieck stützt die direkte Bodenberührung der umgekehrt auf die äußere Schale hineingesetzten Kulturschale. Darauf haben wir die große Schale mit 5-proz. Pyrogallussäurelösung 100 ccm bis zur halben Höhe der Schale gefüllt. Dann fügten wir in die Mitte der Lösung einige Stückchen Kalistange (3—5 g) hinzu und legten auf das Kali ein Stückchen Fließpapier, um die Schaumbildung zu verhindern.

Gleichzeitig mit der Hinzufügung des Kalis und des Papiers haben wir die schon erstarrte Plattenkulturschale in umgekehrter Lage (den Boden nach oben) in die obige Pyrogallussäurelösung hineingelegt und haben darauf rasch in den Zwischenraum der Plattenkulturschale und der größeren äußeren Schale flüssiges Paraffin gegossen, so daß der Innenraum der Plattenkulturschale durch die alkalische Pyrogallussäurelösung und das flüssige Paraffin von der äußeren Luft abgeschlossen wurde.

Nach dieser Manipulation haben wir die ganze Vorrichtung mit der größeren äußeren Schale, wie Fig. 1 zeigt, bedeckt. Man sieht bald,

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 14:45 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

nach einer bis mehreren Minuten, eine braune Färbung der Pyrogallussäurelösung und Hinaufsteigen derselben in die Höhe der inneren Wandung der Plattenkulturschale durch Absorption des in die Schale eingeschlossenen Sauerstoffes.

Die auf obige Weise hergestellte Plattenkultur haben wir bei Agaragarnährböden einer Temperatur von 37° C und bei Gelatinenährböden der Zimmertemperatur ausgesetzt und sahen bei Agaragar schon nach 30 bis 40 Stunden, bei Gelatine nach einigen Tagen reichliche Entwickelung von makroskopisch sichtbaren, mäßig großen Kolonieen von Tetanus- und Oedembacillen. Auch entwickelten sich Tetanus- und Oedembacillenkolonieen bei obigem Verfahren ohne Hinzufügung von flüssigem Paraffin. Man kann diese Kolonieen bei auffallendem Licht direkt durch die Lupe oder mit schwacher, mikroskopischer Vergrößerung untersuchen.

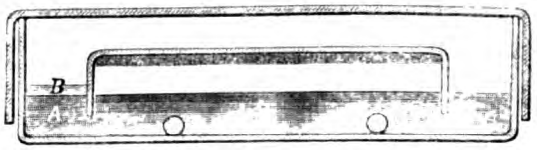


Fig. 1. *A* Alkalische Pyrogallussäurelösung. *B* Flüssiges Paraffin.

Wenn man die auf den Plattenkulturen entwickelten Kolonieen bei durchfallendem Licht durch schwache mikroskopische Vergrößerung untersuchen oder die Kolonieen auf einen anderen Nährboden überimpfen will, so läßt man, wie Fig. 2 zeigt, die Luft durch ein U-förmig gebogenes Glasrohr, welches von dem unteren Rande der Kulturschale bis zum eingeschlossenen Gasraum eingeführt wird, unter leichtem Blasen hineintreten; man kann durch Aufhebung des negativen Druckes dann sehr leicht die Plattenkulturschale herausnehmen.

Da der untere Teil der herausgenommenen Plattenkulturschale mit der alkalischen Pyrogallussäurelösung beschmutzt ist, so legt man dieselbe nach Herausnahme einige Zeit ebenfalls in umgekehrter Lage auf Fließpapier und wischt darauf den beschmutzten Teil mit einem durch Sublimat- oder Karbolsäurelösung befeuchteten Tuche vor der mikroskopischen Untersuchung oder vor dem Fischen der Kolonieen ab.

Wenn man die auf der Kulturplatte entwickelten Kolonieen nach der Herausnahme derselben noch weiter sich entwickeln lassen will, so braucht man bei der gleichen Kulturschale nur die äußere, große Schale, die Pyrogallussäurelösung usw. zu erneuern.

Man kann bei dem obigen Verfahren den Kalizusatz auch am Ende der Manipulation machen, indem man nach obiger Reihenfolge ohne Zusatz von Kali verfährt und dann die Kalistange oder konzentrierte Kalilauge von der Paraffinschicht aus hinzufügt. Dabei muß man aber darauf achten, daß bei Kalilaugenzusatz durch die Vermehrung der Flüssigkeit die Plattenkulturschale mehr emporgehoben und wackeliger wird als beim erstgenannten Verfahren.

2. Verfahren.

Um die Beschmutzung der Kulturschale durch die alkalische Pyrogallussäurelösung zu vermeiden, haben wir, wie Fig. 2 zeigt, ein mehrere Zentimeter hohes, ringförmiges Glas, welches eine mäßig tiefe, ringförmige Rinne und unten drei kleine Füße resp. Stützen hatten, d. h. einen nach oben geöffneten, eine doppelwandige U- oder V-förmige Rinne besitzenden Glasring mit drei Füßen benutzt. Die letztere Stütze dient

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 14:45 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

zum Hineinführen der Luft durch das gebogene Rohr bei der Herausnahme der Plattenkulturschale.

Wir legten diesen Glasring in die Mitte der größeren äußeren Schale so, daß die Rinne nach oben kam. Darauf füllten wir die Rinne mit Quecksilber. Dann haben wir Pyrogallussäurelösung in die äußere Schale, wie früher, hineingegossen und die Kalistange und das Fließpapier hinzugefügt. Gleich nach dem Kalizusatz kommt die Plattenkulturschale ebenfalls in umgekehrter Lage in die mit Quecksilber gefüllte Rinne und wird weiter der Zwischenraum zwischen dem Glasring und der äußeren Schale mit flüssigem Paraffin gefüllt. Dadurch wird der Innenraum der Kulturschale teils durch Quecksilber, teils durch die Pyrogallussäurelösung und das Paraffin von der äußeren Luft abgeschlossen. Schließlich wird die ganze Vorrichtung eventuell mit der großen Außenschale bedeckt.

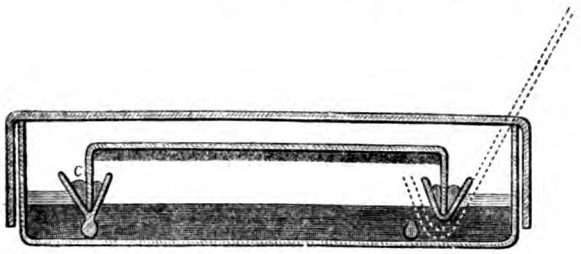


Fig. 2. *C* Quecksilber.

Beim Herausnehmen der Kulturschale nach der Entwickelung der Kolonieen läßt man, wie Fig. 2 zeigt, durch ein U-förmiges Glasrohr die Luft in den Innenraum derselben eintreten, wobei die Kulturschale nicht durch Pyrogallussäurelösung beschmutzt wird.

Bei diesem Verfahren entwickelten sich die Kolonieen des Tetanus- und Oedembacillus ebensogut wie beim ersten Verfahren.

Der Vorzug unserer beiden Verfahren liegt darin, daß man mit den einfachsten Vorrichtungen leicht und sicher die anaëroben Bakterien kultivieren kann.

15. Oktober 1913.

Nachdruck verboten

Apparate vom Typus „Thermos“ als Thermostate.

[Aus dem bakteriologischen Institut Namens G. N. Gabritschewsky an der Moskauer Universität.]

Von Dr. **J. L. Kritschewsky,** Assistenten am Institut.

Mit 2 Textfiguren.

Die Bestrebung, dem praktischen Arzte, dem ein gut ausgestattetes Laboratorium fehlt, den einfachsten, als Thermostat funktionierenden Apparat zu geben, veranlaßte verschiedene Autoren zur Empfehlung einer Reihe von Apparaten zu diesem Zwecke [1]).

Wir stellten uns ebenfalls zur Aufgabe, die Brauchbarkeit der Gefäße vom Typus „Thermos“ als Thermostate für bakteriologische Zwecke nachzuprüfen. In einer unserer Arbeiten [2]) haben wir nebenbei

1) Eine ausführliche Beschreibung derselben finden wir bei R. Abel und M. Ficker in ihrem Büchlein „Ueber einfache Hilfsmittel zur Ausführung bakteriologischer Untersuchungen“.

2) Kritschewsky u. Birger, Zur Frage der Beziehung des Bacillus leprae Hansen zu einigen bei Lepra gezüchteten Mikroorganismen. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 73.)

Generated on 2019-09-15 14:45 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

über die Anwendung der „Thermos"-Gefäße als bequemen, portativen Kühlraum für serologische Zwecke Mitteilung gemacht, und schon damals beschlossen wir, dieselben als Thermostate auszuprobieren,

Die „Thermos"-Apparate sind Gefäße mit doppelter Glaswand, wobei die zwischen den beiden Wänden sich befindende Luft ausgepumpt ist und das auf diese Weise gebildete Vakuum eine gewisse Beständigkeit der Temperatur desjenigen Milieus bedingt, das im Gefäß vorhanden ist. Je vollkommener die Entfernung der Luft ist, desto besser funktioniert der Apparat. Das Glasgefäß ist von Membranen aus verschiedenem Material umhüllt, welcher Umstand ebenfalls demselben Zweck dient; die Oeffnung des Gefäßes wird mit einem Pfropfen verschlossen [1]).

Die Anfüllung des Gefäßes mit Wasser bei 37—38° macht dasselbe zu einem Thermostaten, der sowohl für die Züchtung verschiedener Mikroorganismen, als auch für die Ausführung serologischer Reaktionen, die einen Brutschrank erfordern, vollkommen brauchbar ist.

Die verschiedenen Gefäße vom Typus „Thermos" behalten bei weitem nicht in gleichem Maße im Laufe eines gewissen Zeitraumes die gewünschte Temperatur bei, was von der mehr oder weniger vollkommenen Entfernung der Luft bei der Bildung des Vakuums abhängig ist, und andererseits mit der Fabrikmarke des Apparates in keinem Zusammenhange steht. Uns standen zwei Apparate zur Verfügung, der eine, von der Marke „Globus", behielt die gewünschte Temperatur (37—38°) im Laufe von 4 Stunden, nach Verlauf von 24 Stunden aber verlor das auf 38° erwärmte Wasser 4°, während das Gefäß der Marke „Thermos" (das für die vollkommenste und teuerste Marke gilt) sich als von geringerer Qualität erwiesen hatte, indem es die Temperatur von 38° nur 1 Stunde 15 Minuten beibehielt, nach 24 Stunden aber zeigte das auf 38° erwärmt gewesene Wasser nur noch 20°.



Fig. 1.

Auf Grund der Prüfung eines einzigen Apparates dieser Marke haben wir selbstverständlich kein Recht, von einer geringeren Qualität der „Thermos"-Fabrikate zu sprechen. Indem wir jedoch auf dieses Faktum hinweisen, machen wir die Fabrik auf die Notwendigkeit einer sorgfältigen Kontrolle der Apparate aufmerksam, zumal derjenigen, die als Thermostate benutzt werden sollen.

Aus diesem Grunde haben wir Versuche mit der Züchtung von Mikroorganismen nur im Gefäß „Globus" ausgeführt; die „Thermos"-Apparate aber dienten nur noch zur Anstellung serologischer Reaktionen.

Die Reagensgläser mit besätem Nährboden können auch direkt in den Apparat gestellt werden, jedoch empfehlen wir, um eine zufällige Infektion zu vermeiden, dieselben in ein Penal einzuschließen, das für Wasser undurchlässig ist (Fig. 1) und welches die Möglichkeit gibt, dem Apparat ohne Schaden für die Kulturen eine beliebige Lage zu geben, was besonders für den Ort wechselnde Laboratorien und während Reisen wichtig ist.

Im Apparat vom Typus „Thermos" sind von uns verschiedene Mikroorganismen gezüchtet worden: Staphylococcus aureus, Gonococcus, B. anthracis, B. coli,

1) Der Pfropfen aus Kork muß durch einen aus Gummi ersetzt werden.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 14:45 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

B. typhi, B. pertussis, B. diphtheriae, B. tetani und B. oedematis maligni. Bei der Benutzung dieses Apparates isolierten wir aus der Kultur des urethralen Inhaltes Gonokokken, aus der des Diphtheriebelages Diphtheriebacillen.

Das auf 38° erwärmte Wasser wurde ins Gefäß nach Einstellung des Penals in dasselbe mit den Kulturen eingegossen, und nach Verlauf von 20—24 Stunden erhielten wir das gleiche üppige Wachstum, wie in den Kontrollreagensgläsern im Brutschrank von Roux[1]). Zwecks Erhaltung von Kulturen säurefester Mikroorganismen wurde das auf 38° erwärmte Wasser alle 24 Stunden gewechselt; auf diesem Wege erhielten wir Kulturen von B. tuberculosis bovis und B. leprae (von Kedrowsky) mit einem ebenso üppigen Rasen wie in den Kontrollgläschen, die sich während dieser Zeit im Thermostaten befanden.

„Thermos“-Gefäße, die in Form einer Flasche konstruiert sind, können nur ein Reagensgläschen von gewöhnlicher Größe aufnehmen; es gibt aber auch Gefäße mit breiter Eingangsöffnung, die $^1/_2$—$1^1/_2$ Liter fassen[2]). Ein derartiges Gefäß, welches uns zur Verfügung stand, faßte 1 Liter; der Querdurchmesser der Eingangsöffnung betrug 8 cm, die Tiefe 12,8 cm; in dasselbe konnten 14 Reagensgläschen von gewöhnlicher Größe gestellt werden.

Für serologische Reaktionen sind die Gefäße, Flaschen mit enger Oeffnung, wenig brauchbar, da sie nicht gestatten, die für die Mehrzahl der Versuche genügende Zahl von Reagensgläschen hineinzustellen[3]). Zu diesem Zweck empfehlen wir daher Gefäße vom Typus „ThermosPiknik“. Für Versuche in diesem Apparat benutzten wir das auf Fig. 2 reproduzierte Stativ[4]), welches auch für hohe Reagensgläser angewandt werden kann, die von uns für die Wassermannsche Reaktion gebraucht werden (Durchmesser 1 cm, Länge 12,5 cm), und für Agglutinationsreagensgläser von gewöhnlicher Größe (bei der Einstellung der letzteren werden die Stäbchen *c* herausgenommen, die obere Rosette *a* legt sich auf die mittlere *b*); bei der Einstellung der Pipetten bei der Bestimmung des opsonischen Index muß sich die obere Rosette *a* in einer auf Fig. 2 angegebenen Lage befinden.

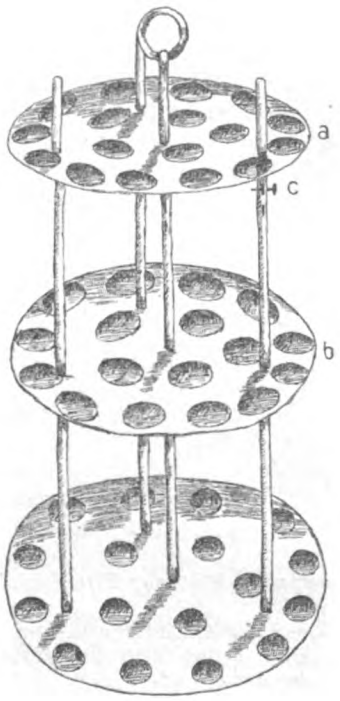


Fig. 2.

1) Fällt nach 10 Minuten die Temperatur des Wassers unter 38° als Folge der Einführung der kalten Masse der im Penal eingeschlossenen Reagensgläser in den Apparat, so wird die Temperatur des Wassers durch Beifügung von erwärmtem bis zur früheren gesteigert.

2) Im Katalog „Thermos“ werden sie „Thermos-Piknik“ genannt.

3) Nur für Versuche mit Opsoninen entsprechen sie den Anforderungen, indem sie gestatten, 10—11 Pipetten unterzubringen; das entsprechende Penal faßt 4 Agglutinationsreagensgläschen und nur 1 Gläschen von demjenigen Kaliber, welches von uns für die Wassermannsche Reaktion benutzt wird.

4) Das Stativ für unseren „Thermos-Piknik“ No. 200 faßt 17 Reagensgläschen oder Pipetten.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 14:45 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

In einem Apparate vom Typus „Thermos“ haben wir die Wassermannsche Reaktion ausgeführt, den opsonischen Index und den Gehalt an Agglutininen bestimmt, wobei die Resultate der Versuche sich stets mit den Kontrollversuchen deckten, die in den genauen Thermostaten unseres Institutes ausgeführt wurden.

Auf Grund unserer Untersuchungen kommen wir zu dem Schlusse, daß jeder praktische Arzt und ein kleines Hospitallaboratorium im Besitze eines gut funktionierenden „Thermos“-Gefäßes ohne Thermostaten auskommen kann. Große Dienste kann dieser Apparat auch den ortswechselnden Laboratorien und auf Expeditionen leisten. Als Thermostat funktionierend, verlangt der „Thermos“-Apparat dank seiner Tragbarkeit weder umständliche Fixierung der Temperatur, noch Ausgaben für die Beheizung zwecks Unterhaltung der gewünschten Temperatur. Auch in großen Laboratorien kann der „Thermos“ nützlich sein, indem er den Gebrauch schwerer Thermostaten für einzelne Versuche bei besonderen Temperaturbedingungen entbehrlich macht, z. B. bei der Züchtung von Thermophylen [1]).

Wir glauben, daß die Gefäße vom Typus „Thermos“ sowohl als Thermostaten, als auch als Kühlräume Anwendung finden werden, und zwar nicht nur im Kabinett des Bakteriologen, sondern auch in jedem biologischen Laboratorium [2]).

Es wäre nur wünschenswert, daß die Fabriken auf die Vollkommenheit der Herstellung des Vakuums besonders acht geben; ferner ist auch die Vergrößerung der Dimensionen der in den Handel kommenden Apparate wünschenswert.

Wir sind Herrn Dr. W. A. Nowosselsky für die Ausführung einiger Versuche im „Thermos“ zu großem Dank verpflichtet.

1) Wir haben einen derartigen Versuch mit einem obligaten thermophilen Bakterium (Wachstumsoptimum bei 61° C) angestellt, das uns von P. W. Zyklinskaja freundlichst zur Verfügung gestellt worden war.

2) Dazu trägt noch der verhältnismäßig geringe Preis dieser Apparate bei. Unser „Globus“-Gefäß kostete bei Wertheim in Berlin 1 M. 90 Pfg., das „Thermos-Piknik“-Gefäß 18 M.

Inhalt.

Carpano, Matteo, Piroplasmosis equina, p. 13.
— —, Kultur der Pferdepiroplasmen und Betrachtung über die Natur der Anaplasmen, p. 42.
Dudtschenko, I. S., Beiträge zur Frage der Eosinophilie, p. 72.
Himmelberger, L. R., Studies in avian tuberculosis, p. 1.
Kozewalow, S., Zur Virulenz des fixen Virus der Tollwut für den Menschen, p. 54.
Kritschewsky, J. L., Apparate vom Typus „Thermos“ als Thermostate, p. 77.
Linton, Edwin, Note on Distomum trachinoti Mac Callum, p. 54.
Mitra, Satyendra Nath, On a peculiar Form of Pasteurella in an Indian Elephant, p. 12.
Ogata, M. u. **Takenouchi, M.,** Einfache Plattenkulturmethode der anaëroben Bakterien, p. 75.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 14:45 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Centralbl. f. Bakt. etc. I. Abt. Originale. Bd. 73. Heft 2.
Ausgegeben am 25. Februar 1914.

Nachdruck verboten.

Untersuchungen über die Variabilität der Bakterien[1]).

III. Mitteilung.

Weitere Untersuchungen über das Sporenbildungsvermögen bei Milzbrandbacillen.

[Aus dem k. k. Hygienischen Institut der Jag. Universität zu Krakau (Vorstand Prof. O. Bujwid) und dem Hygienischen Institut der Kgl. Universität zu Breslau (Vorstand Geh. Med.-Rat. Prof. R. Pfeiffer).]

Von Dr. **Philipp Eisenberg,**
Assistenten am Hygien. Institut zu Breslau.

Mit 4 Textfiguren.

In der ersten Mitteilung konnte unter Verwendung der Methoden und Begriffsbestimmungen der modernen Vererbungslehre gezeigt werden, daß die überwiegende Mehrzahl der Laboratoriumskulturen von Milzbrandbacillen aus einem Gemisch von sporogenen und asporogenen Varietäten besteht. Diese in verschiedenen Kulturen in wechselndem Verhältnis repräsentierten Abarten unterscheiden sich außer dem Sporenbildungsvermögen durch die Morphologie ihrer Kolonieen, zuweilen auch durch andere biochemische oder biologische (Virulenzgrad) Merkmale. Sie sind unter Einhaltung bestimmter Kautelen bis zu einem gewissen Grad bei der Fortpflanzung konstant (wie unten gezeigt werden soll, nicht immer). Bereits vor mir hatte Preisz in einer eingehenden und höchst wichtigen Studie über die Variabilität des Milzbrandbacillus bei 5 von 13 daraufhin untersuchten „natürlichen" Stämmen neben Kolonieen von normalem Typus auch abnorme festgestellt, die sich durch verminderte oder fehlende Sporenbildung auszeichneten. War bereits früher die Existenz von asporogenen „spontan" entstandenen Stämmen bekannt geworden (Lehmann), so zeigt sich hier Koexistenz sporogener und asporogener Kolonieen in einer Kultur, und durch meine Untersuchungen ist eine relative Konstanz dieser nebeneinander bestehenden Typen festgestellt worden.

Meine Beobachtungen fanden eine baldige Bestätigung in der Arbeit von Markoff. Dieser fand zunächt bei einer Reihe von Laboratoriumstämmen gewisse Eigentümlichkeiten (auch betreffs der Sporenbildung), die durch Generationen konstant blieben. Außerdem aber fand er bei einem Stamm zwei makroskopisch unterscheidbare Kolonieentypen, denen eine sporogene und eine fast asporogene Abart entsprach, und die sich als relativ konstant erwiesen. Eine ausgedehntere Untersuchung zeigte das Nebeneinanderbestehen dieser beiden Typen in einer Reihe von Stämmen, wenn alte Gelatinekulturen zur Aussaat verwendet wurden.

1) Die hier mitgeteilten Ergebnisse wurden zum größten Teil besprochen in einem Vortrag bei der VI. Tagung der freien Verein. f. Mikrobiologie am 31. Mai 1912, sodann in Vorträgen in der Hygienischen und Medizinischen Sektion der Ges. f. Vaterländische Kultur in Breslau am 4. Dez. 1912 resp. 14. Febr. 1913 (siehe Berlin. klin. Wochenschr. 1913. No. 5 u. 17).

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 14:45 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Auch Baerthlein hat bei Milzbrandstämmen zwei Abarten, eine sporogene und eine asporogene gefunden, die sich auch durch das Aussehen der Agarkolonieen unterscheiden.

Ich hatte in meiner Arbeit die Vermutung ausgesprochen, daß auch in der Natur unter der Einwirkung derjenigen dysgenetischen Faktoren, die in unseren Kulturen das Erscheinen asporogener Abarten bedingen, solche Abarten entstehen können, wenn auch ihre meist herabgesetzte Widerstandsfähigkeit und Virulenz ihrer Erhaltung nicht günstig sind. Diese Erwartung ist seither durch die Arbeit von M. Müller in Erfüllung gegangen, der aus einer eingegangenen Kuh einen asporogenen, aber virulenten Stamm züchten konnte, der selbst auf Gipsblöcken nicht zur Sporulation zu bringen war.

In weiterer Verfolgung der früher gewonnenen Ergebnisse wollte ich nun in vorliegender Arbeit die „natürlichen" und „künstlichen" Entstehungsbedingungen asporogener Varietäten unter verschärften Kautelen nochmals untersuchen, um über ihre Bedeutung und ihre Schicksale genauere Aufschlüsse zu erlangen.

I. Umwandlungsversuche auf Glyzerinagar sowie bei 42° C.

Ich hatte früher gezeigt, daß es gelingt durch fortgesetzte Züchtung auf Glyzerinagar oder auf gewöhnlichem Agar bei 42° C eine „reine Linie" einer sporogenen Rasse in eine asporogene umzuwandeln, die in einer Reihe weiterer Generationen auch unter optimalen Bedingungen keine Sporen mehr bildet. Die „reinen" asporogenen Linien, die den Ausgangspunkt in jenen Versuchen abgaben, wurden in der Weise erzielt, daß bei einer Plattenaussaat eine typische gut versporte Kolonie gewählt und zu einer neuen Plattenaussaat verwendet wurde. Dieser Vorgang wurde achtmal wiederholt, und erst eine isolierte Kolonie der achten Aussaat wurde als „reine Linie" dem Umwandlungsversuch unterworfen. Nachdem die Kulturen 10 Passagen auf Glyzerinagar resp. bei 42° C durchgemacht hatten, wurde durch weitere 10 Passagen auf gewöhnlichem Agar bei 37° C gezeigt, daß die erlangte Asporogenie auch normalen Sporulationsbedingungen standhält.

Angesichts der prinzipiellen Wichtigkeit solcher Umwandlungsversuche schien es mir nun angezeigt, in erneuten Versuchen 1) die Reinheit der Linie noch strikter zu garantieren, 2) den Umwandlungsvorgang in seinem Verlauf genauer zu verfolgen, 3) die Konstanz der Umwandlungsresultate mit genaueren Methoden festzustellen.

Um mit erhöhter Sicherheit zu einer „reinen" sporogenen Kultur zu gelangen, wurde diesmal die mechanische Methode mit der thermischen in folgender Weise kombiniert: Von einer Plattenaussaat eines Laboratoriumstammes AR4 (der schon früher einmal aus einer Spaltung als sporogene Abart hervorgegangen war) wurde eine typische sporogene Kolonie (mit ca. 90 Proz. sporulierter Individuen) gewählt und in wässeriger Aufschwemmung 10 Minuten lang auf 78—80° C erhitzt. Diese erhitzte Aufschwemmung wurde wieder zu einer Plattenaussaat (Oberflächenausstrich) benutzt; von den aufgegangenen Kolonieen wurde nach 2-tägiger Bebrütung wieder eine typische, gut isolierte sporogene aufgeschwemmt, erhitzt und ausgesät. Dieser Vorgang wurde 18mal wiederholt. Von der Aussaat der 18. Passage wurde eine Kolonie in Wasser aufgeschwemmt und mit dieser Aufschwemmung zum Teil die Ausgangsröhrchen der eigentlichen Versuchsreihen, zum Teil behufs Kontrolle

Generated on 2019-09-15 14:45 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

50 Petri-Schalen in Oberflächenausstrich beimpft. Nach 4-tägiger Bebrütung[1]) wurden 1000 gut isolierte Kolonieen im Ausstrich auf Versporung untersucht und es ergab sich in Uebereinstimmung mit dem strengen Ausleseprozeß, daß alle ausnahmslos gute Sporenbildung zeigten. In jedem Präparat wurde ungefähr der Prozentsatz der versporten Stäbchen geschätzt — keine Kolonie wies weniger als 75 Proz. solcher auf. — Die Verteilung der Prozentsätze auf die 1000 Kolonieen war folgende:

30	Kolonieen	= 3,0	Proz.	à 75	Proz.
231	„	= 23,1	„	à 90	„
688	„	= 68,8	„	à 95	„
51	„	= 5,1	„	à 98	„

Der Durchschnittsgehalt an Sporen betrug für alle 1000 Kolonieen 93,4 Proz. Zu bemerken wäre noch, daß eine davon ziemlich zahlreiche bekapselte Fäden aufwies.

Nachdem diese Kontrolle in bezug auf die Sporogenität der vorliegenden Linie das gewünschte Resultat ergeben hatte, konnte nun an das eigentliche Umwandlungsexperiment herangetreten werden. Die erhaltene rein sporogene Kultur wurde nun einerseits auf Glyzerinagar fortgezüchtet, und zwar in zwei Reihen — die eine wurde jede 24, die andere jede 48 Stunden auf ein frisches Schrägröhrchen überimpft. Andererseits wurde dieselbe Kultur auf gewöhnlichem Agar bei 42° C gezüchtet unter täglicher Ueberimpfung auf ein frisches Röhrchen. Bei allen drei Reihen (A R 4 sp. Gl. a — A R 4 sp. Gl. b — A R 4 sp. 42°) wurde fortlaufend in jeder Generation die Kontrolle der Sporogenität ausgeführt, indem bei jeder Ueberimpfung das Impfmaterial nicht nur auf das folgende Röhrchen, sondern auch auf eine Agarplatte in Oberflächenausstrich übertragen wurde. Nach 4-tägiger Bebrütung wurden 30 Einzelkolonieen auf Sporogenität im gefärbten Ausstrich untersucht. Nach je 5 Generationen wurden mit dem Uebertragungsmaterial 4 Platten bestrichen und 100 Kolonieen gelangten davon zur Untersuchung (sofern sich dies als möglich erwies). Die 24-stündige Glyzerinagar-Reihe wurde nach 20, die 48-stündige nach 17, die 42°-Reihe nach 33 Passagen abgeschlossen — bei Abschluß wurde von der ersten und dritten je eine große Plattenaussaat gemacht und je 1000 Kolonieen davon auf Sporogenität untersucht, bei der zweiten habe ich mich mit der Untersuchung von 100 Kolonieen begnügt.

Wenn wir nun an der Hand der Tab. I und IV den Verlauf der ersten Reihe genauer verfolgen, so sehen wir, daß nach einem etwas unregelmäßigen Anstieg in den ersten Generationen die Kurve asporogener Kolonieen in der 5. Passage plötzlich steil ansteigt, daß jedoch trotzdem noch eine Reihe von Schwankungen erfolgt, bis die Kurve von der 14. Passage an ständig auf dem Niveau von 100 Proz. bleibt. Die in der letzten Kolonne der Tab. I angegebene durchschnittliche Prozent-

1) Die Wahl dieses Zeitpunktes ist natürlich gewissermaßen willkürlich und durch folgende Umstände erschwert: Nicht alle Stäbchen gelangen gleich in den ersten 2 Tagen zur Versporung und besonders bei Herabsetzung des Sporulationsvermögens muß mit einer eventuellen Verzögerung gerechnet werden. Andererseits erfolgt in gut und schnell sporulierenden Kolonieen eine Keimung bereits gebildeter Sporen zu sogenannten sekundären Oberflächenkolonieen, die bereits nach 2—3 Tagen Platz greift und natürlich den Prozentgehalt an Sporen herabsetzt. Außerdem mag hier bereits bemerkt werden, daß eigentlich nur ein positiver Befund für das Vorliegen einer sporogenen Varietät beweisend ist, ein negativer eine vorübergehende Modifikation der Sporogenität nicht ausschließt. Darüber, wie die Entscheidung zu treffen ist, soll noch weiter unten die Rede sein.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 14:45 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

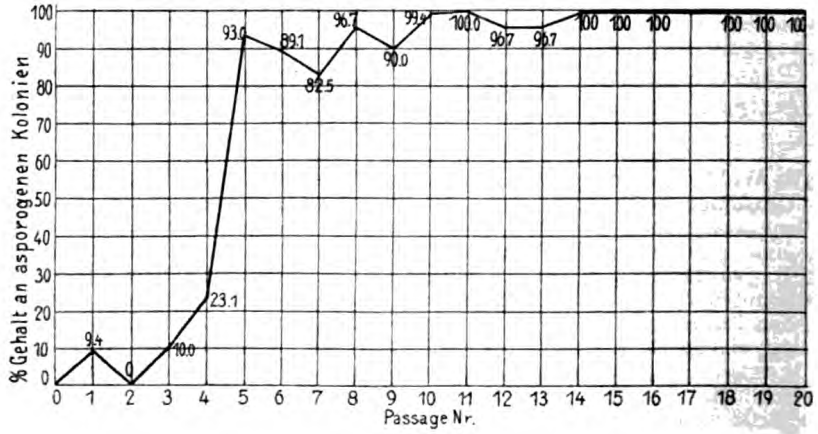
Tabelle I.

Umwandlungsversuch des Stammes AR4sp. bei 24-stündiger Fortzüchtung bei 37° C auf Glyzerinagar (s. auch Tab. IV).
× = konnte nicht untersucht werden.

Passage-No.	Anzahl der untersuchten Kolonieen der Probeaussaat	Anzahl der asporogenen Kolonieen	Prozentsatz der asporogenen Kolonieen	Durchschnittlicher Prozentgehalt an sporentragenden Stäbchen
0	1000	0	0	93,4
I	21	2	9,4	68,3
II	20	0	0	91,0
III	30	3	10,0	78,2
IV	30	7	23,1	64,6
V	100	93	93	6,25
VI	30	27	89,1	7,3
VII	30	25	82,5	12,1
VIII	30	29	96,7	3,0
IX	10	9	90,0	7,0
X	150	149	99,4	0,5
XI	20	20	100,0	0
XII	30	29	96,7	3,0
XIII	30	29	96,7	3,0
XIV	30	30	100,0	0
XV	100	100	100,0	0
XVI	30	30	100,0	0
XVII	30	30	100,0	0
XVIII	×	—	—	—
XIX	7	7	100,0	0
XX	1000	1000	100,0	0

Tabelle IV.

Kurve der 24-stündigen Glyzerinagarreihe des Stammes AR4sp. Auf der Abszisse sind die Passagenummern (entsprechend den Versuchstagen), auf der Ordinate der Prozentsatz asporogener Kolonieen eingetragen.



Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 14:45 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

zahl sporentragender Stäbchen wurde in der Weise erhalten, daß wenn von der betreffenden Plattenaussaat **n** Kolonieen untersucht wurden, die Summe der erhaltenen Prozentzahlen durch 100 n dividiert wurde. Um das an einem Beispiel klar zu machen, wurden in der 2. Passage 20 Kolonieen untersucht. Davon zeigten

2	Kolonieen	98	Proz.	=	2	× 98 =	196
12	„	95	„	=	12	× 95 =	1140
4	„	90	„	=	4	× 90 =	360
1	„	80	„	=	1	× 80 =	80
1	„	50	„	=	1	× 50 =	50
						Summe =	1826

Hätten alle 20 Kolonieen das Ideal an Sporenbildung = 100 Proz. sporentragender Stäbchen (das übrigens nur sehr selten erreicht wird) erzielt, so würde diese Summe $20 \times 100 = 2000$ betragen. Wenn wir also die tatsächliche Summe durch die Idealsumme dividieren, erhalten wir die gesuchte Durchschnittsprozentzahl sporentragender Stäbchen, also

$$\frac{1826}{20 \cdot 100} = 0{,}91 = 91 \text{ Proz.}$$

Diese Prozentzahlen der letzten Kolonne zeigen nun ungefähr ein Spiegelbild derjenigen der vorletzten, die in der Kurve (Tab. IV) veranschaulicht sind, und erreichen in der 14. Passage definitiv das Niveau von 0 Proz. Der Verlauf beider Kurven zeigt uns, daß die Umwandlung für die Gesamtheit der in der Kultur enthaltenen Keime durchaus nicht in gleichmäßiger und abgestufter Weise vor sich geht, so etwa, daß die Sporogenität aller Keime stetig sinken würde, und daß wir in den Passagen sukzessive in allen Kolonieen 80 Proz., dann etwa 50 Proz., dann 30 Proz., 10 Proz. und sofort bis auf 0 Proz. sporogener Stäbchen kämen. Die Umwandlung geht vielmehr zum größten Teil sprungweise vor sich, die Kolonieen mit mittlerer Sporenzahl (80, 50, 30 Proz,) erscheinen selten, ebenso sporenarme Kolonieen von 5, 1 oder 0,1 Proz. — meist findet man entweder sporenreiche (90—98 Proz.) oder sporenfreie (0 Proz.) Kolonieen und die Anzahl der letzteren nimmt im Verlaufe des Versuches stetig zu. Die kleinen Unregelmäßigkeiten in diesem Verlaufe sind auf kleine unbemerkte Nebenwirkungen (oligodynamischer?) Faktoren zurückzuführen, von denen noch weiter unten die Rede sein soll.

Die Zählungen der Sporen in den einzelnen Kolonieen geben (abgesehen von ihrem schätzungsweisen Charakter) keine Gewähr dafür, daß die festgestellten Wandlungen in der Sporogenität dauernder Natur sind, deshalb schien es am Platze, sie von Zeit zu Zeit auf ihre Konstanz zu prüfen. In der 5. Passage waren unter 100 untersuchten Kolonieen 93 sporenfreie gefunden worden; 10 davon wurden auf Schrägagar (gewöhnlichen) überimpft und jede 24 Stunden auf ein frisches Röhrchen weitergebracht. Die Röhrchen selbst wurden 4 Tage lang bei 37° C gehalten und sodann vom obersten Viertel des Belags, wo die Sporulation normalerweise am intensivsten und schnellstens vor sich zu gehen pflegt, Präparate gemacht. In 7 sukzessiven Generationen erwiesen sich alle 10 herausgegriffenen Kolonieen als asporogen. In ähnlicher Weise wurden unter den 149 sporenfreien Kolonieen der 10. Passage 10 gewählt und durch 5 Generationen als asporogen befunden.

Generated on 2019-09-15 14:45 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Besondere Kautelen wurden beim Abschluß der Reihe nach der 20. Passage angebracht. Die mikroskopische Untersuchung von 1000 Kolonieen (ebensoviel als am Anfang) hatte lauter sporenfreie Kolonieen ergeben. Nun kann man sich natürlich der Erkenntnis nicht verschließen, daß die mikroskopische Sporenjagd, wenn sie auch bis auf 0,1 Proz. hinunter (d. h. ein sporentragendes Stäbchen unter 1000) zuverlässig funktioniert, unterhalb dieser Grenze nicht mehr volle Sicherheit bietet. Um nun das Endresultat gegen jede Anzweiflung zu wappnen, wurden von 100 Einzelkolonieen wässerige Aufschwemmungen hergestellt und 10 Minuten lang auf 80° C erhitzt, sodann jede auf die Oberfläche eines Schrägagars gebracht. Alle diese Agarröhrchen blieben auch nach mehrtägiger Bebrütung steril. Endlich wurde bei 10 weiteren Kolonieen dieselbe Probe noch dahin abgeändert, daß die erhitzten Aufschwemmungen nicht nur auf die Oberfläche des Schrägagars ausgestrichen, sondern ein Teil davon auch ins Kondenswasser gebracht wurde, was das Auskeimen vereinzelter durch das Erhitzen geschädigter, aber noch lebensfähiger Sporen (falls sie vorhanden wären) erfahrungsgemäß begünstigen könnte. Auch diese Röhrchen blieben steril. Die untersuchten 110 Kolonieen erwiesen sich also nicht nur mikroskopisch, sondern auch bei der thermobiologischen Probe als sporenfrei.

Weiter wurden 25 Kolonieen der abschließenden Probeaussaat auf die Konstanz ihrer Asporogenie untersucht, indem sie jeden Tag auf ein frisches Schrägagarröhrchen übertragen wurden und in jedem Röhrchen nach 4-tägiger Bebrütung in der oben geschilderten Weise nach etwaiger Sporenbildung gefahndet wurde. Je 10 sukzessive Passagen jeder der 25 Kolonieen erwiesen sich als sporenfrei.

Außerdem wurde aber die Prüfung auf Konstanz der Asporogenität noch in anderer Weise durchgeführt, und zwar wurde vom Glyzerinagarröhrchen der letzten (20.) Passage en bloc auf ein gewöhnliches Schrägagarröhrchen überimpft und diese Passage in 24-stündigen Intervallen über 35 Agarröhrchen fortgeführt. Auch hier ergab die Untersuchung nach 4-tägiger Bebrütung immer einen sporenfreien Belag.

Konnte die Kultur auf kulturellem Wege nicht mehr zur Sporenbildung zurückgebracht werden, so war noch eventuell der Weg des Tierversuches zu betreten, um zu diesem Ziel zu gelangen. Die Ausgangskultur zeigte bereits abgeschwächte Virulenz ($^1/_{10}$ Oese einer jungen Agarkultur tötete ein größeres Meerschweinchen nicht mehr, wohl aber 1 Oese), die asporogen gewordene zeigte noch eine weitere Abschwächung, indem jetzt eine halbe gut gewachsene Agarkultur (intraperitoneal) Meerschweinchen nicht zu Falle brachte. Für Mäuse war sie dagegen noch virulent und es wurde nun eine Maus damit intraperitoneal infiziert und nachdem sie eingegangen war, von ihrem Herzblute eine Schrägagarkultur angelegt. Von dieser Kultur wurde am nächsten Tag eine weitere Maus infiziert, die Kultur selbst nach 4-tägigem Wachstum in der bereits beschriebenen Weise mikroskopisch auf Sporenbildung untersucht. Auf diese Weise machte die Kultur 7 Mäusepassagen durch mit dem Resultat, daß zwar die Virulenz für Mäuse stieg und daß die anfänglich dürftige Kapselbildung sich besserte, daß jedoch die Sporenbildung nach wie vor ausblieb.

Um den erlangten Umwandlungsgrad noch zu steigern, wurde die Kultur nach den ersten 20 Passagen noch über weitere 20 Glyzerinagarröhrchen geführt, diesmal ohne Kontrollaussaaten und der dermaßen in seiner Asporogenie gefestigte Stamm nun 44 Agarpassagen mit 24-stün-

Generated on 2019-09-15 14:45 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

digem Intervall unterworfen. Alle diese 44 Röhrchen enthielten nach 4-tägiger Bebrütung keine Sporen. Auch diese Kultur hat 7 Mäusepassagen standgehalten, ohne wieder sporogen zu werden. Diese Kultur hat seither in anderen Versuchen seit mehr als 1 Jahr ihre Asporogonie bei öfteren Ueberimpfungen bewahrt.

Was die sonstigen Eigenschaften der umgewandelten Kultur betrifft, so erübrigt sich ihre Schilderung angesichts der in der ersten Mitteilung gegebenen Beschreibung des kulturellen Verhaltens asporogener Rassen sowie der in der Literatur niedergelegten Befunde. Nur einige Details möchte ich erwähnen. Erstens die Neigung beim Altern der Kultur eigentümliche Involutionsformen zu geben, die an Hefezellen, Spindeln, Keulen oder Tennisschläger erinnern, und wie man sie kaum in normalen Kulturen, öfters aber als Heteromorphosen in Lithiumchloridagarkulturen beobachtet. Zweitens die erhöhte Häufigkeit von Kolonieen, die viele kapseltragende Stäbchen und Ketten aufweisen. Wie oben erwähnt, war in der großen Aussaat zu Beginn der Versuchsreihe unter 1000 Kolonieen 1 solche zu finden, in der abschließenden Aussaat waren unter ebenfalls 1000 Kolonieen 59 vorhanden. Endlich möchte ich bemerken, daß die einigemal in der Literatur geäußerte Ansicht von der überaus großen Fragilität asporogener Kulturen im allgemeinen doch nicht zutrifft, da man oft aus 1—2-monatigen Agarkulturen mit positivem Erfolg überimpfen kann. Die Widerstandsfähigkeit sporenhaltiger Kulturen erreichen sie natürlich nicht.

Tabelle II.

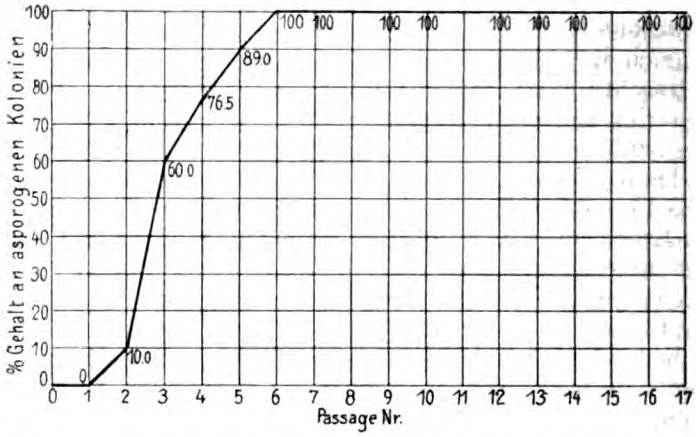
Umwandlungsversuch des Stammes AR4sp. bei 48-stündiger Fortzüchtung bei 37° C auf Glyzerinagar (s. auch Tab. V).

Passage-No.	Anzahl der untersuchten Kolonieen der Probeaussaat	Anzahl der asporogenen Kolonieen	Prozentsatz der asporogenen Kolonieen	Durchschnittlicher Prozentgehalt an sporentragenden Stäbchen
0	1000	0	0	93,4
I	30	0	0	89,5
II	30	3	10,0	75,0
III	30	18	60,0	30,3
IV	30	23	76,5	18,1
V	100	89	89,0	8,5
VI	30	30	100,0	0
VII	30	30	100,0	0
VIII	×	—	—	—
IX	30	30	100,0	0
X	100	100	100,0	0
XI	×	—	—	—
XII	30	30	100,0	0
XIII	30	30	100,0	0
XIV	4	4	100,0	0
XV	×	—	—	—
XVI	20	20	100,0	0
XVII	100	100	100,0	0

Generated on 2019-09-15 14:45 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Tabelle V.

Kurve der 48-stündigen Glyzerinagarreihe des Stammes AR4sp. Auf der Abszisse sind die Passagenummern (entsprechend je 2 Versuchstagen), auf der Ordinate der Prozentsatz asporogener Kolonieen eingetragen.



Die Glyzerinagarreihe mit 48-stündiger Ueberimpfung, deren Verlauf in Tab. II und V dargestellt ist, erinnert im großen und ganzen an die 24-stündige, nur ist hier der Anstieg regelmäßiger, die Stabilität des Erfolges größer. Wenn man berücksichtigt, daß zwei 24-stündige Passagen mehr Generationen repräsentieren, als eine 48-stündige (da in den zweiten 24 Stunden die Vermehrung kaum mehr weiter geht), so kommt man zu der Ueberzeugung, daß hier eine längere Einwirkung des dysgenetischen Faktors auf eine kleine Reihe von Generationen dasselbe leistet, als eine kürzere Einwirkung, die mehr Generationen trifft. Die bleibende Asporogonie ist hier nach 6 Passagen = 12 Tagen, dort nach 14 Passagen = 14 Tagen, also fast gleichzeitig erreicht. Bei der 5. Passage wurden 10 mikroskopisch als sporenfrei befundene Kolonieen durch 5 Passagen auf gewöhnlichem Agar in der schon geschilderten Weise als dauernd asporogen erwiesen. Von der den Abschluß bildenden 17. Glyzerinagarpassage wurde auf gewöhnlichen Schrägagar überimpft und hier 45-tägliche Passagen fortgeführt, die sich ausnahmslos als sporenfrei erwiesen.

Ein etwas abweichendes Gepräge zeigt die auf gewöhnlichem Agar bei 42° C gezüchtete Reihe (Tab. III und VI). Wir sehen hier 7 Passagen ohne besonderen Effekt an dem Stamm vorübergehen und dann erst, nach dieser Latenzperiode setzt das Erscheinen und Ansteigen der asporogenen Kolonieen ein, um ziemlich rasch 100 Proz. zu erreichen. Auch hier geht es nicht ohne unmotivierte starke Schwankungen und Rückfälle, die auf Mitwirkung anderer uneruierbarer Faktoren hindeuten. In der 10. Passage wurden von den 79 asporogenen Kolonieen 10 durch Agarpassagen auf die Konstanz der Asporogenie geprüft. In der 1. Passage auf gewöhnlichem Agar zeigten zwei von diesen Sporenbildung, in der 2. nur mehr eine, in der 3., 4. und 5. keine mehr. Es war also die Asporogenie in dieser Passage noch nicht bei allen Kolonieen gefestigt, bei manchen war anscheinend die Sporenbildung im Erlöschen begriffen. Damit stimmt gut die Tatsache überein, daß, wie ein Blick auf die Kurve (Tab. VI) zeigt, gerade in der 10. Passage ein plötzliches starkes Anwachsen der asporogenen Kolonieen erfolgte, dem in der nächsten Passage

Generated on 2019-09-15 14:45 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

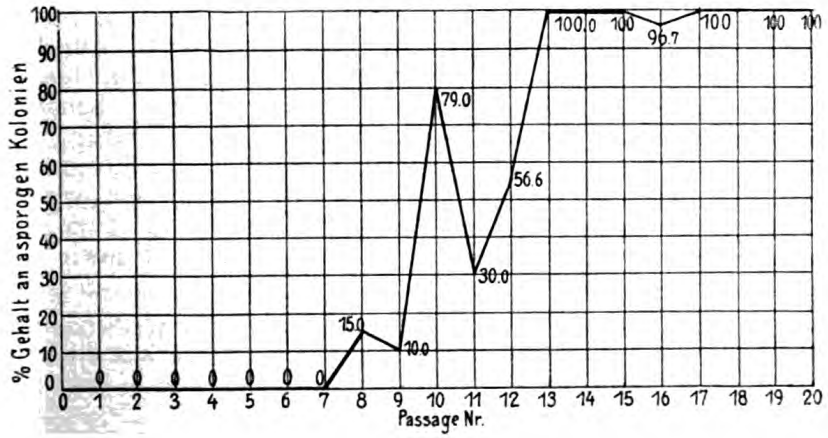
Tabelle III.

Umwandlungsversuch des Stammes AR4sp. bei 24-stündiger Fortzüchtung auf gewöhnlichem Agar bei 42° C.

Passage-No.	Anzahl der untersuchten Kolonieen der Probeaussaat	Anzahl der asporogenen Kolonieen	Prozentsatz der asporogenen Kolonieen	Durchschnittlicher Prozentgehalt an sporentragenden Stäbchen
0	1000	0	0	93,4
I	30	0	0	93,1
II	25	0	0	94,0
III	30	0	0	87,6
IV	30	0	0	98,9
V	100	0	0	94,1
VI	30	0	0	94,6
VII	30	0	0	88,4
VIII	40	6	15,0	78,5
IX	20	2	10,0	85,0
X	100	79	79,0	19,6
XI	30	9	30,0	62,2
XII	30	17	56,6	40,8
XIII	30	30	100,0	0
XIV	30	30	100,0	0
XV	100	100	100	0
XVI	30	29	96,7	1,7
XVII	30	30	100,0	0
XVIII	×	—	—	—
XIX	30	30	100,0	0
XX	100	100	100,0	0
XXV	100	100	100,0	0
XXXIII	1000	1000	100,0	0

Tabelle VI.

Kurve der 24-stündigen Versuchsreihe des Stammes AR4sp. auf gewöhnlichem Agar bei 42° C. Konstruktion wie in Tabelle IV. Von der 20.—33. Passage (bis zum Abschluß der Reihe) blieb der Prozentsatz der asporogenen Kolonieen unverändert bei 100 Proz.



Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 14:45 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

ein Zurücksinken der Kurve folgt, als Ausdruck einer nur vorübergehenden und unvollständigen Beeinflussung durch irgendein interkurrentes Agens.

Auch wurde nach Abschluß der Reihe bei der 33. Passage, wobei eine Aussaat 1000 asporogene Kolonieen ergab, an 100 dieser Kolonieen die thermobiologische Probe ebenfalls mit negativem Resultat ausgeführt. Es wurden 25 Kolonieen je 10 Agarpassagen unterworfen, ohne je Sporenbildung gezeigt zu haben. Sodann wurde die Kultur vom 33. Passageröhrchen auf gewöhnlichen Schrägagar übertragen und hier bei 37° C 44mal umgezüchtet, auch hier ohne jegliches Resultat in bezug auf Sporenbildung. Endlich erwiesen sich auch 6 Mäusepassagen außer stande, die verlorene Eigenschaft dem Stamme wiederzugeben.

Die in der ersten (Gl a) Reihe beobachtete erhöhte Neigung zur Kapselbildung fand sich auch bei den Stämmen wieder, die die 48-stündige Glyzerinagarpassage (Gl b) sowie die 42°-Passage durchgemacht hatten. Die Schlußaussaat der Reihe Gl b ergab unter 100 Kolonieen 12 mit starker, 20 mit ausgesprochener Kapselbildung, die vorletzte Aussaat unter 20 Kolonieen 12 kapselhaltige. Die Schlußaussaat der 42°-Reihe wies unter 1000 Kolonieen 45 kapselhaltige auf. Diese Kapselbildung ist keine ganz konstante Eigentümlichkeit der betreffenden Kolonieen, wie etwa ihre Asporogenie — ihre Nachkommenschaft kann sie wieder zum Vorschein bringen oder auch vermissen lassen. Es scheint nach meinen Beobachtungen, daß gewisse Eigenschaften des Nährbodens ihr Auftreten auch bei vorhandener Tendenz zur Kapselbildung bestimmen oder verhindern können. Nur so kann man wohl die Beobachtung deuten, die ich zu wiederholten Malen machen konnte, daß bei Aussaat aus demselben Material auf einer Platte keine, auf der anderen spärliche, auf einer dritten sehr zahlreiche kapselhaltige Kolonieen zu finden sind. Nach eigenen Untersuchungen glaube ich kaum, daß es der von Kodama als Hauptfaktor bei der Kapselbildung angesprochene stärkere Alkaleszenzgrad ist, der diese Erscheinung bedingt. Solange diese Frage, mit der ich mich schon einmal früher befaßt habe, nicht hinreichend geklärt ist, wird man mit endgültigen Urteilen über die Konstanz und Bedeutung dieses biochemischen und morphologischen Merkmals zurückhalten müssen.

Endlich möchte ich noch ganz kurz über eine Versuchsreihe berichten, die sich mit dem Einfluß von Lithiumchlorid auf die Milzbrandbacillen befaßte. Bekanntlich üben Lithiumsalze (Gamaleia, Maassen, v. Eisler) einen stark entwickelungshemmenden Einfluß aus — ich hoffte also durch diese Einwirkung ziemlich rasch asporogenen Milzbrand zu erzielen. Der Versuch wurde mit einer reinen Linie eines sehr gut sporulierenden Stammes (A. Burow) angestellt. Auf Agar mit 2 Proz. LiCl (der Gehalt bezieht sich auf wasserfreie Substanz!) war kein Wachstum zu erzielen — wurde gut ernährtes lebenskräftiges Bacillenmaterial aufgebracht, so erfolgte reichliche Versporung (ebenso wie etwa in Wasser oder auf Kreidestäbchen)[1]) — auf 1,5-proz. LiCl-Agar war das Wachstum etwas gehemmt — es wuchsen vorwiegend kleine, aber sporogene Kolonieen, darunter etwa $^1/_{10}$ etwas größere sporenfreie (solche Größendifferenzen sind von Penfold sowie von mir

1) Die Angabe von Busson, daß er auf 2-proz. LiCl-Agar Wachstum bei einem Milzbrandstamm erzielt hat, bezieht sich wahrscheinlich auf das kristallwasserhaltige Salz LiCl + 2 Aq. (2 Proz. = 1,54 Proz. LiCl).

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 14:45 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

öfters bei Einwirkung hemmender Stoffe beobachtet). Auf Agar mit 1 Proz. LiCl erfolgte unbehindertes Wachstum mit normaler Sporenbildung. Es wurde nun der Stamm 7mal in 2-tägigen Abständen auf Agar mit 1 Proz. LiCl bei 35° C umgezüchtet und sodann auf ein Röhrchen mit 2 Proz. LiCl ausgesät — ebenso wurde derselbe Stamm 4mal auf Agar mit 1,5 Proz. LiCl vorgezüchtet und kam dann auf 2-proz. LiCl-Agar. Während eine Kontrollaussaat des unvorbehandelten Stammes auf 2-proz. LiCl-Agar wie gewöhnlich versagte, gingen beide Aussaaten der vorbehandelten Kultur mit mäßiger Ueppigkeit an. Der 7mal vorgezüchtete Stamm zeigte sich dem LiCl besser angepaßt als der nur 4-fach (wenn auch bei höherem LiCl-Gehalt). Die auf 2-proz. LiCl-Agar gewachsenen Stäbchen boten ein normaleres Bild und es waren nur seltene Heteromorphosen in Form von Keulen und hefeähnlichen Gebilden zu sehen; die Sporenzahl betrug etwa 50 Proz. Die 2. Kultur (4mal vorgezüchtet) enthielt ziemlich zahlreiche Heteromorphosen und nur 20 Proz. der Stäbchen brachten es zur Sporenbildung. Die Divergenz beider Kulturen steigerte sich noch, als jede von ihnen noch 3mal weiter auf 2-proz. LiCl-Agar umgezüchtet wurde — die 2. Generation zeigte bei der ersten 80 Proz. Sporen, bei der anderen nur 1 Proz., die dritte bei der ersten 50 Proz., bei der zweiten 2 Proz. Die Reihe wurde nicht weiter verfolgt. Doch lehrt der dargestellte Verlauf, daß durch Vorzüchtung auf nur mäßig oder nicht hemmenden Konzentrationen der Milzbrandbacillus in kurzer Zeit dazu gebracht werden kann, auf Konzentrationen von LiCl zu wachsen, die sonst kein Wachstum zulassen. Hand in Hand mit dieser physiologischen Umstimmung geht auch eine morphochemische Anpassung, wie sie schon von Maassen früher beobachtet worden ist, die abnormen Wuchsformen treten auch auf dem 2-proz. LiCl-Agar bei dem angepaßten Stamm nicht auf.

II. Umwandlungsversuche durch Beeinflussung einer Generation.

Nachdem in den bisher beschriebenen Versuchen die Möglichkeit sich ergeben hatte, durch protrahierte auf Reihen von Generationen wirkende Agentien die Umwandlung herbeizuführen, wurde nun weiter versucht, ob es gelingen würde, durch einmalige Einwirkungen resp. durch Einflüsse, die nur eine Generation treffen würden, eine ähnliche Umstimmung zu erzielen. Ein derartiges positives Resultat hätte für die theoretische Beurteilung und Einreihung solcher Umwandlungen (Anpassung — Mutation?) gewissen Wert. Es wurde zunächst daran gedacht, solche Versuche mit Sporen anzustellen. Hier haben wir, sofern die Anwesenheit von vegetativen Formen dabei ausgeschlossen ist, einen Ruhezustand vor uns, der uns die Gewähr gibt, daß unsere Einwirkung nur eine Generation beeinflussen kann. Bei der Anstellung dieser und der folgenden Untersuchungen wurde die oben gemachte Erfahrung zunutze gemacht, daß die Umwandlung der Gesamtheit einer Kultur eine längere Einwirkungsdauer erfordert, daß dagegen einzelne Keime viel früher umgestimmt werden können. Ich hielt mich deshalb immer an Einzelkolonieen resp. ihre Nachkommenschaft.

Zuerst wurde untersucht, ob lange in angetrocknetem Zustande aufbewahrte Sporen eine Beeinflussung der Sporogenität der daraus gekeimten Stäbchen aufweisen können. Hat doch de Vries bei der Oenothera lamarckiana aus lange aufbewahrtem Samen mehr

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 14:45 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Mutanten züchten können, als aus frischem. Die Reaktionsträgheit des ruhenden Protoplasmas könnte hier durch lange Einwirkungszeiten von Sauerstoff, Licht, Temperaturwechsel u. dgl. wettgemacht werden. Die Reinheit der Linie ist bei solchem Material durch seinen Ursprung und die lange Aufbewahrung gegeben. Es wird ja zur Herstellung von Sporenfäden gut versportes Material benutzt, und sollten auch asporogene Anteile darin mitenthalten sein, so werden sie durch das lange Verbleiben in trockenem Zustande ausgemerzt. Die zu den Versuchen benutzten Sporenfäden (5 verschiedene Proben) waren 6—9 Jahre alt in Reagensgläschen oder Petri-Schalen im verschlossenen Schrank aufbewahrt. Sie wurden in Bouillonröhrchen gebracht, darin durchgewirbelt und dann im Brutschrank stark schräg gelegt, um guten Luftzutritt zu bewirken. Nach 12—15 Stunden wurde aus der bereits gut sichtbaren Bouillonkultur auf Agarplatten ausgestrichen und nach 14-tägiger Bebrütung die aufgegangenen Einzelkolonieen auf ihre Versporung untersucht.

Die erhaltenen Resultate waren nun verschieden je nach dem Stamm. 2 Stämme (A. Flügge und A. Kalb) gaben bei der Aussaat lauter sporogene Kolonieen mit 80—95 Proz. resp. 90—95 Proz. versporter Stäbchen. Einer gewissen Beeinflussung scheinen zwar die Stämme nicht entgangen zu sein, doch läßt sich das nicht sicher behaupten, da das Ausgangsmaterial seinerzeit nicht besonders untersucht wurde. Bei Stamm Flügge zeigten die (oberflächlichen) Agarkolonieen ein besonderes Gepräge, und zwar ein dichteres Zentrum mit spärlichen feinen oberflächlichen Sekundärkolonieen (Knöpfchen) und einen breiten, dünnen, durchsichtigen, zerfaserten Randteil. Diese Charaktere sowie die ausgesprochene Braunfärbung des Agars kehren bei den aus alten Sporenfäden herausgezüchteten Stämmen öfters wieder. Stamm Kalb wiederum zeigte zwei makroskopisch nicht unterscheidbare Kolonieenarten — beide gut sporogen. Mikroskopisch kam der Unterschied erst nach paartägiger Bebrütung gut zur Geltung. Die einen Kolonieen wiesen neben Sporen das gewöhnliche Bild zerfallender oder zum Teil erhaltener Stäbchen und Ketten auf, die anderen (3 unter 20) zeigten neben Sporen kurze, auffallend dicke, stark gefärbte Komma- oder verschlungene Spirillenformen auf, gewöhnlich zu größeren Nestern und Knäueln vereinigt. Die Unterschiede der beiden Kolonieenformen erwiesen sich als konstant, sowohl bei weiterer Plattenaussaat, als auch auf anderen Nährböden.

Ein etwas abweichendes Resultat gab Stamm A. Krakau. Die Aussaat aus dem Bouillonröhrchen auf 5 Agarplatten ergab Kolonieen mit folgenden Prozentzahlen sporentragender Stäbchen:

Platte I { 0 —70— 0 — **0** — 0 — 0 — 0 — **0** — 1 — 0
0 — 5 —10— 1 — 0 — 0 — 0 — 0 — 0 —10

Platte II **0** — 0 — 0 — 1 — 0 — 0 —80— 5 — 0 — **1**

Platte III 30—50—50—10—50—50—50—**95**—80—30

Platte IV 0 — 0 —80— 0 —**10**— 0 —10— 0 — 1 —50

Die fettgedruckten Kolonieen wurden zu weiterer Aussaat verwendet.

Von einer Reihe dieser Kolonieen wurden weitere Plattenausstriche gemacht, die nach 4-tägiger Bebrütung folgende Prozentzahlen ihrer Kolonieen gaben:

Kol. I 4 (0 Proz.): **0** — 0 — 0 — 0 — 0 — 0 — 0 — 0 —0,1— 0
0,1—0,1—0,1—0,1—0,1—0,1—0,1— 3 — 1 — 1 } Durchschnitt 0,29 Proz.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 14:45 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Kol. I 8 (0 Proz.): 0,1—0,1—0,1—0,1—0,1—0,1—0,1— 3 —0,1—0,1
0— 3 — 1 — 3 — 3 — 3 — 3 — 1 — 3 —0,1 } Durchschnitt 1,2 Proz.

Kol. II 1 (0 Proz.): 0,1— 3 — 3 — 1 — 1 —10 —10 — 3 — 1 —10
1 —0,1— 1 — 1 — 1 — 1 — 1 — 1 — 3 —10 } Durchschnitt 3,1 Proz.

Kol. II 10 (1 Proz.): 0 —0,1— 0 — 0 — 0 — 1 — 1 — 3 — 1 — 3
0— 0 — 1 —0,1— 1 — 3 — 1 — 0 — 1 — 3 } Durchschnitt 1,0 Proz.

Kol. III 8 (95 Proz.): 50—50 —90 —90 —50 —95 —80 —95 —90 —95
90—95 —95 —90 —95 —90 —95 —95 —70 —90 } Durchschnitt 84,5 Proz.

Kol. IV 5 (10 Proz.): 10—10 —30 —10 — 1 — 1 —30 — 1 — 3 —30
10—10 —90 —10 —90 —10 —80 —10 —70 — 3 } Durchschnitt 25,4 Proz.

Wir sehen bereits bei der ersten Aussaat (Platte I—IV), daß auf Platte III eine Häufung sporentragender Kolonieen sich bemerkbar macht und daß auf dieser Platte keine einzige sporenfreie Kolonie vorkommt, während sie auf den anderen Platten die Hälfte bis drei Viertel aller Kolonieen ausmachen. Das deutet wohl auf ein latentes Sporulationsvermögen hin, das durch besondere Faktoren zum Vorschein gebracht werden kann. Bei der folgenden Aussaat sehen wir tatsächlich, wie auch in der Aussaat von sporenfreien Kolonieen jetzt Kolonieen mit 0,1—10 Proz. sporentragender Stäbchen erscheinen, wie eine Kolonie mit 10 Proz. Sporen in ihrer Nachkommenschaft solche mit 10—90 Proz. aufweist.

Im allgemeinen sehen wir in dieser zweiten Aussaat eine Tendenz zur Erhöhung der Sporenzahl, wie die Zusammenstellung der Sporenzahl der Ausgangskolonieen mit der Durchschnittszahl der Tochterkolonieen lehrt. In demselben Sinne sprach eine weitere Uebertragung der (fettgedruckten) ersten Kolonie der Aussaat von Kol. I 4, also einer asporogenen Kolonie, deren Mutter bereits ebenfalls asporogen war, auf ein Schrägagarröhrchen. Nach 4-tägiger Bebrütung zeigte die oberste Partie des Belages 95 Proz. Sporen — es hatte also die schärfere Konkurrenz (als auf der Agarplatte) und vielleicht die stärkere Austrocknung das schlummernde Sporulationsvermögen geweckt.

Während hier die Beeinflussung der Sporogenität durch das lange Lagern des Sporenmaterials teilweise nur vorübergehender Natur war, erwies sie sich bei zwei weiteren Stämmen als dauerhafter — auch hier freilich nur bei einzelnen Individuen. Bei Stamm Roßhaar ergab die Aussaat aus dem Bouillonröhrchen Kolonieen mit folgenden Prozentzahlen:

0—50—70—50—70—50—90—80—50—50

Eine Aussaat von der 0 Proz.-Kolonie ergab wiederum 20 asporogene Kolonieen, die auch weiterhin, auch bei Verimpfung auf Schrägagar ihre Asporogenität bewahrten. Bei Stamm Ziege zeigte die Aussaat aus dem Bouillonröhrchen:

1— 3 — 3 —3—10— 3 — 5 — 5 —10—50
3— 3 — 5 —5—70—10—10— 3 —30—10
1—0,1—0,1—1—50—10—50—80—50—70

Die weitere Aussaat von Einzelkolonieen dieser Platten ergab:

Kol. 1 (1 Proz.): 3 — 5 — 1 — 5 — 3 — 3 —10— 1 —10—10
10—10— 1 — 1 — 3 —10—10—10—10—10 } Durchschnitt 6,33 Proz.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 14:45 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Kol. 5 (10 Proz.): 70—70—80—70—80—90—70—80—70—0
80—70—50—70—80—70—70—70—50—70 } Durchschnitt 68,0 Proz.

Kol. 22 (0,1 Proz.): 1—1—1—1—1—1—1—1—**0**—2
3—10—10—1—3—3—1—10—50—10 } Durchschnitt 5,55 Proz.

Kol. 28 (80 Proz.): 3—1—10—3—3—10—3—3—3—3
10—20—70—50—50—10—20—30—50—70 } Durchschnitt 21,1 Proz.

Im großen und ganzen ergibt sich also ein schwankendes Verhalten der einzelnen Kolonieen — die drei ersten zeigen Steigerung der Sporulationsfähigkeit — progressive Erholung von den Schäden der langen Aufbewahrung — die vierte zeigt umgekehrt ein Sinken. Eine Aussaat der 9. Kolonie der Aussaat von Kol. 22 ergab 40 sporenfreie Kolonieen, 10 davon wurden auf Schrägagar verimpft und blieben auch hier asporogen. Es ist also hier eine asporogene Rasse herausdifferenziert worden aus einer Kolonie die 1 Prom. Sporen aufwies — vielleicht war die Kolonie eine Mischkolonie oder aber war sie eine fast asporogene, die im Laufe der Behandlung eine Spaltung in sporogene und asporogene Anteile erfuhr. Das letztere scheint mir wahrscheinlicher.

Endlich wurde noch ein Versuch gemacht mit einem alten Röhrchen des in der ersten Mitteilung mehrfach erwähnten Stammes AN3spor. Es war das 10. Röhrchen einer sukzessiven Auslese von typisch sporogenen Einzelkolonieen und war nach 19-monatiger Aufbewahrung bei Zimmertemperatur stark eingetrocknet. Die Aussaat aus der Bouillonvorkultur ließ Kolonieen mit folgenden Sporenprozenten aufwachsen:

90—95—95—95—95—95—95—95—95—95
95—95—95—95—90—90—90—80—95—90
95—**0**—95—95—90—95—95—95—95—95
80—90—**0,1**—80—90—90—80—95—95—95
90—95—80—95—90—20—90—90—70—95

Die folgende Aussaat von Kol. 22 (0 Proz.) ergab 30 asporogene Kolonieen, diejenige von Kol. 33 (0,1 Proz.) zeigte neben 2 Kolonieen mit 90 Proz. Sporen 28 asporogene. Es war also wahrscheinlich die Kolonie mit 1 Prom. Sporen eine Mischkolonie gewesen, die durch die Aussaat in ihre Bestandteile zerlegt wurde.

Außer diesen Versuchen wurde noch die Frage verfolgt, ob es nicht gelingen würde durch einmalige stärkere — aber subletale Schädigung eine Umstimmung des Sporulationsvermögens zu bewirken. Zu diesem Zweck wurde Sporenmaterial aus einer reinen sporogenen Linie verschieden lange Zeit auf 80° resp. 85° C erhitzt in der Hoffnung, daß bei einer Temperatur, bei der ein Teil der Sporen abgetötet würde, die noch auskeimenden sich vielleicht beeinflußt zeigen würden. Hat doch Weil vor Jahren gezeigt, daß durch längeres Erhitzen geschädigte Sporen von B. mesentericus ruber ihre herabgesetzte Resistenz auf die Nachkommenschaft vererben. Meinen Versuchen bezüglich des Sporulationsvermögens war kein solcher Erfolg beschieden — es zeigte sich entweder Abtötung oder Fehlen jeglicher Beeinflussung.

Sodann glaubte ich, daß solche Versuche vielleicht dann eher zum Ziele führen würden, wenn die Schädigung ein besonders empfindliches Entwickelungsstadium unserer Bacillen treffen könnte. Haben ja Erfahrungen auf experimentell-biologischem Gebiete

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 14:45 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

in letzter Zeit öfters gezeigt (Standfuß, Fischer, Tower u. a.), daß ein bestimmter Reiz, der sonst wirkungslos ist, in solch einer „sensiblen Periode" besonders tiefgreifende Aenderungen hervorrufen kann. Eine solche besonders empfindliche Periode habe ich in der Keimungszeit der Sporen vermutet, also nach den Versuchen von Weil sowie Fischoeder in der ersten Stunde nach der Einsaat von Sporenmaterial in Bouillon (bei 37° C). Derart vorbehandeltes Material wurde nun nach halb- bis einstündigem Aufenthalt bei 37° C verschieden lange auf 50° resp. 55° C erhitzt, doch auch dadurch ließ sich das Sporulationsvermögen nicht ändern. Vielleicht werden hier weitere noch mehr variierte Versuche Erfolg bringen.

III. Ueber Umwandlungs- und Auslesevorgänge unter gewöhnlichen Kulturbedingungen.

In der ersten Mitteilung wurde auf die paradoxe Tatsache hingewiesen, daß eine sporulierende Kultur, die sporogene und asporogene Anteile nebeneinander enthielt, durch zehn 24-stündige Passagen auf gewöhnlichem Agar zu einer asporogenen wurde. Ich hatte damals diese Erscheinung als Auslesevorgang gedeutet, den ich damit erklärte, daß bei einer Aussaat aus einer mäßig jungen Kultur die ausgesäten Stäbchen der asporogenen Rasse schneller zur Vermehrung schreiten, als die Stäbchen der sporogenen Rasse, die erst einer gewissen Zeit bedurften, um aus den Sporen zu keimen. Es würde dadurch eine Verschiebung der Verhältniszahl beider Rassen gegeben, die im Laufe der Generationen sich summiert und zum Verschwinden der sporogenen Rasse führen kann. Eine ähnliche Erscheinung hat Preisz bei manchen normalen virulenten Stämmen beobachtet, die nach mehrmonatiger täglicher Umzüchtung auf Agar bei 20—25° C kaum mehr Sporen erzeugten und sehr schwach virulent geworden sind. Bei Saccharomyces Pombe ist dieses paradoxe Phänomen bereits vor Jahren von Beijerinck beobachtet worden, der dafür folgende geistreiche Erklärung vorschlug: „Es ergibt sich nämlich, daß die Sporenbildung langsamer stattfindet als die Sprossung. Hat man nun einen sehr stark sporenbildenden Stamm in Kultur genommen, so werden die sporogenen Zellen frühzeitig zur Sporenbildung gelangen und dann, wenn die Sporen nicht sofort auskeimen, in den Ruhestand treten, zu einer Zeit, wo noch Nahrung genug da ist, um die vegetativen Zellen zu einer Sprossung zu veranlassen. Kennt man diese Verhältnisse nicht, so wird man bei der Ueberimpfung unwillkürlich eine große Masse vegetativer Zellen und nur wenige sporogene überbringen und nach wenigen Ueberimpfungen die letzteren beinahe gänzlich verlieren."

Mir schien das Problem noch weiterer Untersuchungen wert und ich ging nun mit den verfeinerten Methoden einer individuellen Analyse daran. Leider konnten aus äußeren Gründen nicht alle Versuche so genau durchgeführt werden, wie sie ursprünglich geplant waren — sie erfordern einen großen Aufwand an Material und Zeit und stellen an die Geduld des Untersuchers große Anforderungen — doch auch so, wie sie sind, bringen sie viel Interessantes. Während der in der ersten Mitteilung beschriebene Versuch an einer Mischkultur, wie sie das Laboratorium sie uns bietet, ausgeführt war, habe ich jetzt selbst eine Mischung einer reinen sporogenen Linie und einer von ihr abgeleiteten asporogenen hergestellt. Es war dies einerseits die Ausgangskultur des im ersten Abschnitt geschilderten großen

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 14:45 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Umwandlungsversuchs (AR4spor.), andererseits eine Kultur, die 20 Glyzerinagarpassagen (zu je 24 Stunden) durchgemacht hatte. Gleiche Mengen einer jungen Agarkultur jeder der beiden reinen Linien wurden in Bouillon aufgeschwemmt und mit diesem Gemisch drei Schrägagarröhrchen beimpft. Das eine wurde jede 8 Stunden weitergeimpft, das andere jede 24 Stunden, das dritte jede 48 Stunden. Als Kontrollreihen dienten 2 Agarpassagen, eine 24- und eine 48-stündige, der reinen sporogenen Linie. Eine Probeaussaat des Ausgangsgemisches ergab unter 100 Kolonieen 48 sporogene, also eine ungefähr gleichmäßige Beteiligung der sporogenen und asporogenen Anteile. Von Zeit zu Zeit wurden Probeaussaaten aus den verschiedenen Reihen gemacht und durch Untersuchung von 20—100 Kolonieen die Prozentzahl sporogener Kolonieen festgestellt.

Ein Ueberblick der gewonnenen Resultate (s. Tab. VII) läßt uns folgendes erkennen: In der 8-stündigen Reihe ist das Gemisch nach

Tabelle VII.

Passageversuch mit dem Gemisch einer reinen sporogenen und asporogenen Linie auf gewöhnlichem Agar bei 35° C. Die Querreihen entsprechen dem Versuchstag (0 bedeutet hier Probeaussaat des Ausgangsmaterials), es bedeutet also in der ersten Reihe der 15. Tag die 45. Passage, in der zweiten die 15., der 16. in der dritten die achte. Die Zahlen bedeuten den Prozentgehalt an sporogenen Kolonieen, die daneben unten angebrachten die Anzahl der untersuchten Kolonieen der betr. Probeaussaat.

Versuchstag	Gemisch überimpft jede			Kontrolle (sporogene Linie) überimpft jede	
	8 St.	24 St.	48 St.	24 St.	48 St.
0	48_{100}	48_{100}	48_{100}	100_{100}	100_{100}
1		80_{30}			
2		$36{,}3_{30}$	80_{30}		
3		$37{,}5_{40}$			
4		20_{50}	66_{60}		
5		15_{100}			
6		0_{30}	25_{40}		
7		$1{,}6_{60}$			
8		0_{50}	14_{50}		
9		0_{30}			
10	0_{100}	2_{100}	60_{100}		
11		5_{40}			
12			85_{20}		
13					
14					
15	0_{100}	$1{,}2_{83}$		2_{100}	
16			96_{100}		89_{100}

10 Tagen ganz sporenfrei geworden — ebenso nach 15 — die zwischen dem Ausgangspunkt und diesem Endresultat enthaltenen Etappen sind leider nicht untersucht worden. Die 24-stündige Reihe des Gemisches zeigt ein ständiges wenn auch nicht ganz stetiges Sinken der Anzahl

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 14:45 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

sporentragender Kolonieen, das mit ihrem fast völligen Verschwinden abschließt. Ganz anders ist das Bild der 48-stündigen Reihe — hier geht die Anzahl sporogener Kolonieen trotz vorübergehender Senkung in die Höhe und steht beim Abschluß auf 96 Proz. Stellt man sich auf den Standpunkt der früher angeführten von mir gegebenen Erklärungshypothese, so wären die entgegengesetzten Resultate der zweiten und dritten Reihe folgendermaßen zu deuten: Bei 24-stündiger Uebertragung sind die asporogenen Stäbchen noch lebenskräftig und können auf dem frischen Nährboden sofort zur Vermehrung schreiten, wodurch sie die Sporen überflügeln. In einer 48-stündigen Kultur dagegen sind sie bereits zu einem großen Teil stark geschädigt und trotz der Verzögerung durch die Keimungszeit könnte es den Sporen gelingen, einen Vorsprung zu gwinnen.

Soweit wäre die Sache in Ordnung — wie steht es aber dann mit der ersten Reihe — in der 8-stündigen Kultur werden ja noch keine Sporen gebildet — es wäre also kein Grund gegeben für zeitliche Differenzen der Vermehrung beider Rassen und damit für die Ueberwucherung der einen durch die andere. Einen gewissen Fingerzeig geben uns hier die beiden Kontrollreihen des Versuchs — speziell die 24-stündige. Sie zeigen uns, daß auch eine reine sporogene Linie bei 24-stündiger Fortzüchtung auf Agar in ihrer Sporulationsfähigkeit sehr stark zurückgehen kann, während bei 48-stündiger die Beeinträchtigung nur gering ist. Die Erklärung dafür wäre vielleicht in zahlreichen kleinen Schädigungen zu suchen, die im Laufe der Passagen die Kultur unbemerkt treffen und die dann durch Schaffung asporogener Anteile zu Auslesevorgängen Anlaß geben könnten. In Uebereinstimmung mit den Gemischreihen hätten wir eine solche Auslese nach der asporogenen Rasse zu in der 24-stündigen Reihe — nach der sporogenen zu in der 48-stündigen. Je größer die Anzahl der Generationen, desto zahlreicher diese Schädigungsmöglichkeiten — das wäre dann vielleicht die Erklärung der 8-stündigen Gemischreihe.

Daß derartige Vorgänge möglich sind und im Schicksal unserer Laboratoriumstämme eine Rolle spielen können, dafür scheint mir folgende Versuchsreihe zu sprechen, die nach dem Muster des im ersten Abschnitt wiedergegebenen großen Umwandlungsversuchs angestellt wurde. Zum Unterschied gegen füher wurden hier die Passagen nur 24-stündig fortgeführt, dagegen wurde noch eine Kontrollreihe auf gewöhnlichem Agar bei 35° C geführt. Die Reihe konnte aus äußeren Gründen nicht zu Ende geführt werden, doch bietet auch das vorliegende Versuchsergebnis viel Interessantes. Zum Versuch wurde diesmal der Stamm A. Burow herangezogen, den mir Herr Prof. Sobernheim liebenswürdigerweise als hochvirulenten Milzbrand überlassen hatte. Auch in meinen Händen erwies sich der Stamm als stark virulent, auch muß er wohl öfters Auslesevorgänge (vielleicht unbewußte) durchgemacht haben, denn bei 2 Probeaussaaten erwiesen sich alle 40 resp. 100 untersuchten Kolonieen als sporogen. Mit Rücksicht darauf wurde hier eine besondere Auslese unterlassen, und eine Kolonie der zweiten Probeaussaat ergab das Ausgangsmaterial. Zur Sicherung der Resultate wurde dieses Ausgangsmaterial noch auf 50 Platten ausgestrichen und 1000 Einzelkolonieen auf ihre Versporung nach 4-tägiger Bebrütung untersucht. Alle erwiesen sich als sporenhaltig, nur 6 davon wiesen weniger

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 14:45 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

als 90 Proz., keine weniger als 50 Proz. sporentragender Stäbchen auf. Unter den 100 Kolonieen enthielten

2	Prom.	—	100	Proz.	Sporen
5	„	—	99	„	„
70	„	—	98	„	„
820	„	—	95	„	„
97	„	—	90	„	„
4	„	—	70	„	„
2	„	—	50	„	„

Die Sporulationsfähigkeit des Stammes war also eine sehr gute zu nennen, die Reinheit der Linie einwandfrei. Die Durchschnittszahl der sporentragenden Stäbchen betrug für alle 1000 Kolonieen 94,56 Proz. Aus der Tabelle VIII, die die Ergebnisse der Versuchsreihe übersichtlich darstellt, erhellt, daß zunächst der Stamm sich in der Glyzerinagarreihe widerspenstiger gebärdet, als der im früher dargestellten Versuch ver-

Tabelle VIII.

Umwandlungsversuch des Stammes A. Burow.

Passage-No.	1. Reihe Glyzerinagar bei 35° C			2. Reihe Gewöhnlicher Agar bei 42° C			3. Reihe (Kontrolle) Gewöhnlicher Agar bei 35° C		
	Anzahl der untersuchten Kolonieen	Durchschnittliche Prozentzahl sporogener Stäbchen	Proz. asporogener Kolonieen	Anzahl der untersuchten Kolonieen	Durchschnittliche Prozentzahl sporogener Stäbchen	Proz. asporogener Kolonieen	Anzahl der untersuchten Kolonieen	Durchschnittliche Prozentzahl sporogener Stäbchen	Proz. asporogener Kolonieen
0	1000	94,56	0	1000	94,56	0	1000	94,56	0
I	100	65,7	9,0	100	67,9	5,0	50	62,2	20,0
II	100	79,0	6,0	91	46,5	44,4	50	69,8	14,0
III	100	77,4	13,0	100	54,0	37,0	50	83,9	2,0
IV	100	72,8	14,0	80	44,8	35,0	50	84,9	4,0
V	100	57,5	38,0	100	85,6	1,0	50	62,4	28,0
VI	100	53,9	42,0	90	80,4	2,2	50	69,3	16,0
VII	100	57,5	30,0	100	88,0	0	50	61,5	28,0
VIII	100	58,1	33,0	100	84,0	0	50	32,2	66,0

wendete AR4. Es ergibt sich daraus in Bestätigung ähnlicher früherer Befunde von Surmont und Arnould, Baudet sowie Sobernheim, daß nicht alle Milzbrandstämme den Umwandlungsprozeß gleich leicht und schnell durchmachen. Das gilt freilich nur, solange man den Stamm als Ganzes betrachtet, einzelne Individuen können, wie wir noch sehen werden, auch bei schwer zu meisternden Stämmen relativ früh der Umwandlung anheimfallen.

Komplizierter liegen die Verhältnisse in der 2. und 3. Reihe. Um mit der letzteren anzufangen, sehen wir, daß auch eine reine Linie bei Passagen auf gewöhnlichem Agar bei optimaler Temperatur nicht unverändert bleibt, sondern unter Umständen ziemlich weitgehende Aenderungen ihres Sporulationsvermögens durchmacht. Zudem sind diese Aenderungen nicht einsinnig gerichtet, sondern

Generated on 2019-09-15 14:45 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

unterliegen starken Schwankungen. Das läßt vermuten, daß die zugrunde liegenden Faktoren nicht immer bleibende Effekte zur Folge haben müssen. Um darüber klar zu werden, habe ich die sporenfreien Kolonieen der Probeaussaaten der ersten Passagen auf die Konstanz ihrer Asporogenie geprüft. Von 3 Kolonieen der 1. Kontrollpassage wurden 7 Passagen auf gewöhnlichem Agar bei 35° C gemacht; die Untersuchung der obersten Kulturanteile nach 4-tägiger Bebrütung ergab, daß eine Kolonie sich doch als sporulationsfähig erwies, die beiden anderen verharrten in ihrer Asporogenie. Ebenso erwiesen sich 4 sporenfreie Kolonieen der 2. Kontrollpassage, eine der 3. und zwei der 4. bei 5 sukzessiven Uebertragungen als konstant. Dasselbe Verhalten zeigten 14 Kolonieen aus den ersten 3 42°-Passagen, während von 14 Kolonieen der ersten 3 Glyzerinagarpassagen 12 sporenfrei blieben und zwei die Sporenbildung wiedererlangten. Wir ersehen daraus, daß die durch zum Teil unbekannte Faktoren bewirkten Umstimmungen des Sporenbildungsvermögens teilweise stabiler, teilweise vorübergehender Natur sind. Wenn man dazu noch die Möglichkeit von Auslesevorgängen ins Auge faßt, die mit dem Erscheinen asporogener Anteile gegeben sind, so begreift man die Mannigfaltigkeit der möglichen Verlaufsweisen, wie sie das Experiment — oft in unerwarteter Weise — bietet.

In der 42°-Reihe war ein schneller Erfolg nach den Erfahrungen des großen Umwandlungsversuchs von vornherein kaum zu erwarten — es trat trotzdem eine allmählich ganz beträchtliche Anzahl sporenfreier Kolonieen auf, die aber nachträglich merkwürdigerweise verschwand. Diese Erscheinung ist vielleicht dahin zu deuten, daß durch Zusammenwirken der dysgenetischen Temperatur und der anderen nicht näher bekannten schädigenden Faktoren zuerst die empfindlichsten Keime asporogen werden, dann aber bei fortgesetzter Einwirkung in ihrer Vermehrungsfähigkeit geschädigt und dadurch (unter Mitwirken von Auslesevorgängen?) den widerstandsfähigeren sporogenen Keimen das Feld räumen. Auf ein ähnliches Zusammenwirken der Stoffwechselschädigung und der anderen Faktoren ist ja wahrscheinlich auch das Resultat der Glyzerinagarpassagen zurückzuführen. Es wird hier wohl durch die Einwirkung der gebildeten Säure ein sonst allmählich und unstet verlaufender Vorgang verstärkt und beschleunigt.

Um in diese Verhältnisse noch tiefer einzudringen und speziell die Wandlungen der Sporogenität auf gewöhnlichem Agar besser zu verfolgen, wurde noch einmal eine große Versuchsreihe unternommen. Der schon im letzten Versuch verwendete Milzbrandstamm Burow wurde wieder herangezogen, und da er schon auf seine Reinheit (bezüglich der Sporogenität) ausgeprüft war, ohne weiteres Ausleseverfahren. Er wurde bei 35° C auf gewöhnlichem Agar fortgezüchtet, und zwar in einer Reihe jede 8 Stunden, in einer zweiten jede 24 Stunden, in einer dritten jede 3 Tage einmal. Jede Passage der 2. und 3. Reihe sowie jede 3. Passage der 1. Reihe wurden zur Probe auf Agarplatten ausgestrichen und davon nach 4-tägiger Bebrütung nach Möglichkeit 100 Einzelkolonieen im mikroskopischen Präparat auf die erfolgte Versporung untersucht.

Der Verlauf des Versuches, wie er in Tabelle IX übersichtlich wiedergegeben ist, bietet manches Interessante. Zunächst die Ausgangskultur: Es war ein Röhrchen, das von der ersten großen Probeaussaat her (s. Tab. VIII) einige Monate aufbewahrt worden war und direkt

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 14:49 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle IX.

Passagen des Stammes A. Burow auf gewöhnlichem Agar in Reihe A 8-stündig, in Reihe B 24-stündig, in Reihe C 72-stündig, alle bei 35° C. Probeaussaaten wurden in der A-Reihe aus jeder dritten Passage, in der B- und C-Reihe aus jeder Passage gemacht, es entspricht also in der Tabelle z. B. der 30. Versuchstag der 90. Passage in A, der 30. in B und der 10. in C. Nach 4-tägiger Bebrütung der Probeaussaatplatten bei 35° C wurden fast ausnahmslos 100 Einzelkolonieen auf den Versporungsgrad untersucht.

Versuchstag	Reihe A 8-stündig		Reihe B 24-stündig		Reihe C 72-stündig	
	Durchschnittliche Prozentzahl versporter Stäbchen	Proz. asporogener Kolonieen	Durchschnittliche Prozentzahl versporter Stäbchen	Proz. asporogener Kolonieen	Durchschnittliche Prozentzahl versporter Stäbchen	Proz. asporogener Kolonieen
0	61,2	0	61,2	0	61,2	0
1	86,5	0	90,5	0		
2	82,2	0	88,2	1,0		
3	84,0	0	90,3	0	90,4	0
4	85,0	0	86,9	1,0		
5	84,2	0	87,9	2,0		
6	76,8	9,0	86,5	1,0	83,0	3,0
7	82,8	2,0	87,2	1,0		
8	80,0	11,0	85,2	7,0		
9	84,4	2,0	88,0	1,0	88,7	0
10	64,5	23,0	71,9	17,0		
11	38,2	50,0	81,2	4,0		
12	60,3	29,0	55,0	33,0	78,2	5,0
13	62,0	25,0	69,6	15,0		
14	32,6	58,3	69,7	19,0		
15	28,4	64,0	36,1	55,0	81,5	1,0
16	45,9	40,7	63,2	27,0		
17	43,1	46,0	30,2	58,0		
18	37,5	51,7	22,7	74,0	77,1	2,0
19	47,3	46,0	34,1	61,0		
20	51,6	34,7	49,1	43,8		
21	46,7	28,0	42,9	37,0	52,3	9,0
22	18,4	48,0	58,6	13,0		
23	46,7	32,5	46,4	15,0		
24	14,6	64,0	10,1	35,0	45,4	35,0
25	61,6	26,0	56,4	22,0		
26	58,8	20,0	20,5	45,0		
27	43,5	24,0	59,7	27,0	59,4	29,0
28	54,2	13,0	42,0	37,0		
29	58,2	27,0	37,8	55,0		
30	57,4	25,0	49,6	38,0	80,7	3,0

Generated on 2019-09-15 14:49 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Versuchstag	Reihe A 8-stündig		Reihe B 24-stündig		Reihe C 72-stündig	
	Durchschnittliche Prozentzahl versporter Stäbchen	Proz. asporogener Kolonieen	Durchschnittliche Prozentzahl versporter Stäbchen	Proz. asporogener Kolonieen	Durchschnittliche Prozentzahl versporter Stäbchen	Proz. asporogener Kolonieen
31			82,6	2,0		
32			60,9	13,8		
33	44,4	31,0	18,7	78,0	82,3	8,0
34			4,8	94,0		
36	50,7	23,0	0	100	82,0	8,0
39	69,0	17,0	0	100	64,6	31,0
42	22,5	17,0	0	100	11,8	88,0
45	58,0	20	0	100	11,3	87,0
48	65,4	5,0	0	100	6,7	93,0
51	67,4	5,0	0	100	53,7	42,0
54	65,0	17,0	0	100	82,7	5,0
57	62,1	14,0	0	100	90,6	3,0
60	66,2	12,0	0	100	88,4	4,0

zur Aussaat verwendet wurde. Es war entsprechend der Reinheit der Linie unter 100 Einzelkolonieen keine einzige sporenfreie aufgegangen, doch war der Versporungsgrad nicht so gut wie seinerzeit, und zwar im Durchschnitt 61,2 Proz. versporter Stäbchen gegen 94,56 Proz. im früheren Versuch. Dort waren 99,4 Proz. Kolonieen zu finden, die 90 Proz. versporter Stäbchen aufwiesen und darüber, hier nur 49 Proz. Das bekräftigt unsere oben bei der Aussaat aus alten Sporenfäden gemachte Erfahrung, daß auch im Ruhezustand die Sporen nicht straflos die Einwirkung schleichender, minimaler Schädlichkeiten erleiden. Doch war diese Schädigung nur vorübergehender Natur, denn bereits in den nächsten Generationen geht die Durchschnittszahl versporter Stäbchen in allen 3 Reihen in die Höhe. Freilich bleibt sie auf diesem Niveau von 85—90 Proz. nicht ständig — es setzt besonders in der Reihe **A** und **B** ein Schwanken in ziemlich weiten Grenzen ein — die ursprünglich nicht vorhandenen asporogenen Kolonieen erscheinen zuerst zaghaft, dann in immer größerer Zahl. In der Reihe **A** beherrschen diese Schwankungen das Bild bis zum Abschluß des Versuchs nach 60 Tagen. Die stellenweise bis auf 14,6 Proz. gesunkene Durchschnittszahl versporter Stäbchen ist zu Ende doch bei 66,2 Proz. — nur enthält jetzt die Kultur eine Reihe asporogener Kolonieen. In der Reihe **B** dasselbe abwechslungsreiche Bild, aber hier langt die Kultur am 36. Tage bei völliger Asporogenie an, die sich bis zum Abschluß unverändert erhält. Anders steht es mit der **C**-Reihe. Hier sind die Schwankungen eine Zeitlang geringer, zwei Depressionsstadien machen sich bemerkbar, eins um den 24.—27. Tag herum, ein anderes langdauerndes vom 39. bis 51. Tag, doch geht die Kultur auch aus diesem siegreich hervor und schließt mit 88,4 Proz. versporter Stäbchen und nur 4 Proz. asporogener Kolonieen relativ günstig ab (s. auch die Kurven in Tab. X).

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 14:49 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Wenn wir uns nun nach der Ursache dieser eigentümlichen Erscheinungen fragen, so müssen wir uns nach den bisher gemachten Erfahrungen sagen, daß hier wahrscheinlich ein Zusammenwirken einer Reihe von Faktoren vorliegt, deren wechselndes Spiel den zum Teil abenteuerlichen Verlauf der Kurven bedingt. Vor allem wahrscheinlich eine Reihe unmerklicher Schädigungen, wie sie den kleinen, fast unvermeidlichen Kalamitäten der Nährbodenbereitung entspringen. Es wurden zwar immer größere Mengen für die Versuchsreihen vorbereitet, um möglichst gleichmäßige und einwandfreie Bedingungen zu schaffen, doch auch so macht sich hier und da eine der kleinen Miseren des Laboratoriumslebens doch unangenehm bemerkbar. Für derartige Ursachen würde z. B. der ungefähr gleichsinnige Verlauf der Kurven der **A**- und **B**-Reihe zwischen dem 7. und 24. Tage sprechen — doch sind sie sicher nicht die einzigen, wie die weitere starke Divergenz der 3 Kurven beweist. Als zweiter wichtiger Faktor kommen zweifellos Auslesevorgänge in Betracht, die sich (speziell in der **B**-Reihe) der durch die kleinen Schädigungen geschaffenen asporogenen Anteile bemächtigen und sie eventuell auf Kosten der sporogenen überwuchern lassen können.

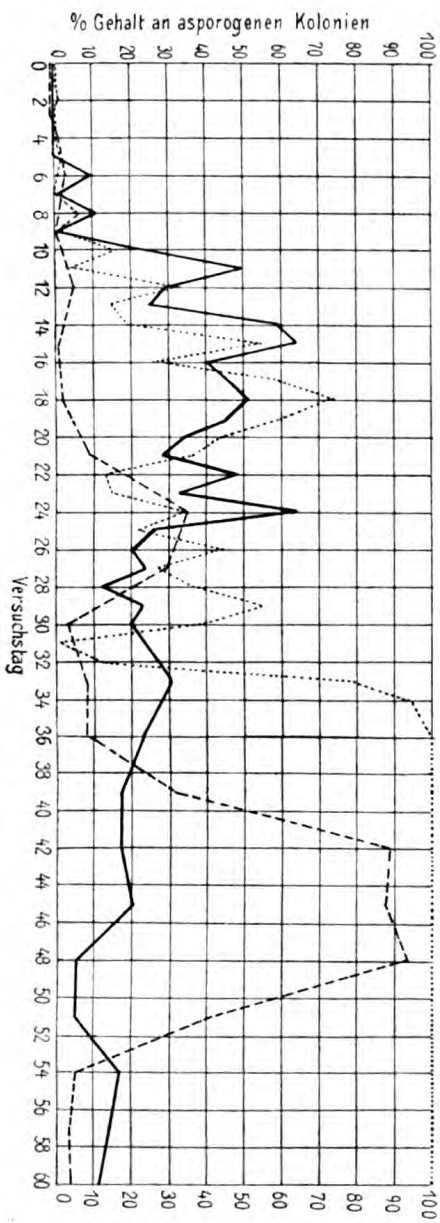


Tabelle X.

Der Verlauf des in Tabelle IX wiedergegebenen Versuches in Kurvenform. Auf den Abszissen sind die Versuchstage (1—60), auf den Ordinaten der Prozentsatz der betreffenden Probeaussaat an asporogenen Kolonieen eingetragen. Die ausgezogene (——) Kurve ist diejenige der **A**-Reihe, die punktierte (.....) diejenige der **B**-Reihe, die gestrichelte (- - - - -) diejenige der **C**-Reihe.

Warum in der **A**-Reihe nach recht bedenklichen Schwankungen nach oben zu die Kurve doch sinkt und sich in der zweiten Hälfte des Versuches in mäßiger Tiefe hält, während die Kurve der **B**-Reihe nach ähnlicher Vorgeschichte ziemlich rapid hinaufschnellt, um dann ganz oben zu bleiben, läßt sich nicht ganz sicher sagen. Es wäre denkbar, daß die Bedingungen für eine Auslese der Asporogenen, wie sie früher besprochen wurde, in der 24-stündigen Reihe günstiger liegen, als in der

Generated on 2019-09-15 14:49 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

8-stündigen. In der 24-stündigen haben die sporogenen Individuen zum Teil wenigstens Zeit sich zu versporen — die asporogenen sind aber noch wenig geschädigt. Wird hier nach 24 Stunden überimpft, so vermehren sich zuerst die Asporogenen, dann aber erst die Sporogenen, deren Keimung einige Zeit beansprucht — damit ist dann die Möglichkeit eines Ueberhandnehmens seitens der Asporogenen gegeben. In der 8-stündigen Reihe dagegen kommt es wohl nur ausnahmsweise zur Versporung der sporogenen Stäbchen und damit entfällt hier diese Möglichkeit. Ob hier vielleicht ein anderer Vorgang — eine „Inaktivitätsatrophie" der sporogenen Mechanismen, ein „Verlernen" der Sporenbildung infolge Nichtausübung dieser Funktion bei der Schaffung asporogener Anteile mitwirkt, ist kaum zu sagen, ich halte es jedoch für wenig wahrscheinlich.

Eine umgekehrte Auslese ist wahrscheinlich in der C-Reihe am Werk. Durch das längere Reifen der einzelnen Passagen können einerseits alle sporogenen Individuen zur Versporung gelangen (günstige Bedingungen vorausgesetzt) — die sporenfreien Individuen dagegen haben Zeit, um zu degenerieren oder abzusterben. Bei erneuter Aussaat brauchen nun die geschädigten sporenfreien Individuen wahrscheinlich mehr Zeit zur Erholung und Vermehrung, als die relativ frischen und nicht geschädigten Sporen zur Auskeimung. Es wirkt also die Ueberimpfung in mäßig entfernten Zeitpunkten ungefähr ähnlich, wie die Erhitzung durch Elimination (hier weniger gründliche) der sporenfreien Individuen.

Für die Beurteilung der ganzen Versuchsreihe war es von Wichtigkeit zu erfahren, welchen Grad der Konstanz die aus dem Versuch hervorgegangenen asporogenen Keime besitzen. Was uns die Probeaussaaten zeigen, ist ja noch nicht sichere konstante Asporogenie — es kann in Uebereinstimmung mit den Befunden mit den Sporenfäden nur vorübergehende Beeinflussung des Sporenbildungsvermögens vorliegen. Auch im Umwandlungsversuch auf Agar bei 42° C hatten unter 10 sporenfreien Kolonieen der Probeaussaat der 10. Passage zwei sich auf Schrägagar als doch noch zur Sporenbildung befähigt herausgestellt. Von den 100 sporenfreien Kolonieen der 60. Passage der B-Reihe wurden 20 im Erhitzungsversuch auf Sporenfreiheit kontrolliert und bestanden die Probe. 10 davon wurden nun in fortlaufenden Schrägagarpassagen auf die Konstanz der Asporogenität geprüft. Da die früheren Untersuchungen dafür sprechen, daß ein nicht allzu oft (aber auch nicht zu spätes) Ueberimpfen der Erhaltung der Sporogenität günstiger ist, als etwa alltägliches, wurde die Technik dieser Prüfungen dahin abgeändert, daß die auf Konstanz zu prüfenden Kulturen nicht jeden Tag, sondern jeden 3. Tag auf einen frischen Schrägagar gebracht wurden. Die mikroskopische Untersuchung auf Versporung erfolgte wie früher nach 4-tägiger Bebrütung. Wegen der Wichtigkeit der Befunde sind die Resultate dieser fortlaufenden Prüfungen in Tabelle XI ausführlich wiedergegeben. Wir ersehen daraus das verschiedene Schicksal der einzelnen Abkömmlinge der 10 Kolonieen, die alle eine gleiche Vorgeschichte aufweisen und alle in mikroskopischer sowie thermobiologischer Prüfung sich als sporenfrei erwiesen hatten. Wenn wir zunächst nur die Ergebnisse bis zur 54. Passage ins Auge fassen, sehen wir, daß nur 2 Kolonieen bis zu diesem Termin dauernd sporenfrei geblieben sind (VIII. und IX.). Alle anderen lassen früher oder später Sporen aufkommen, die X. bereits in der 4. Passage, die VII. erst in der 48. Die Wiedererlangung der

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 14:49 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Sporenbildung geht plötzlich vor sich, meist werden beträchtliche Sporenzahlen bereits in den allernächsten Generationen erreicht. Wieweit dabei eine Auslese der sporogenen Stäbchen (3-tägige Intervalle!) mit im Spiel ist, läßt sich nicht entscheiden. Die Labilität der wiedererlangten Funktion gibt sich öfters in einem erneuten Ausbleiben oder starken Sinken (unter Mitwirkung von Schädigungen?) kund. Bei der VII. Kolonie war überhaupt nur während 4 Passagen bescheidene Sporenbildung zu verzeichnen.

Tabelle XI

stellt die Prüfung von 10 Kolonieen aus dem vorhergehenden Versuch Reihe B auf die Konstanz ihrer Asporogenie dar. Schrägagarpassagen jede drei Tage. Die Zahlen geben den Prozentgehalt der betr. Röhrchen an versporten Stäbchen an.

Kolonie-No.	Passage-No.																
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
I	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
II	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
III	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
IV	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
V	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
VI	0	0	0	0	0	0	0	0	10	35	5	50	50	15	80	50	50
VII	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
VIII	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
IX	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
X	0	0	0	55	80	25	55	10	90	0,1	20	55	25	35	35	65	45

Kolonie-No.	Passage-No.																
	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34
I	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	30	90
II	0	0	0	0	0	0	0	0	30	80	50	80	45	60	75	0	0
III	0	20	65	80	85	50	30	80	70	80	35	0,1	50	70	0,1	80	25
IV	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
V	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
VI	98	50	70	65	55	20	30	50	30	60	35	0,1	30	20	0,1	0	0
VII	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
VIII	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
IX	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
X	98	80	80	20	20	75	30	50	5	5	30	0,1	70	50	50	0,1	80

Kolonie-No.	Passage-No.																
	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51
I	75	95	70	35	45	45	70	80	20	60	70	90	85	70	50	25	60
II	0	0	0	0	0,75	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
III	80	85	90	75	80	50	90	85	90	90	96	70	85	90	80	80	80
IV	0	0	0	0	0	0	0	0	15	25	90	70	40	70	80	80	80
V	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	20	40	50	85	80	70	80
VI	0	0	0	25	10	35	95	20	85	60	80	50	50	50	80	70	60
VII	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,1	10	10	0,1
VIII	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
IX	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
X	30	15	30	50	30	90	85	75	75	50	80	70	60	60	0,1	60	80

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 14:49 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Kolonie-No.	Passage-No.															
	52	53	54	55	56	57	58	59	60	61	62	63	64	65	66	67
I	50	80	30	50	1	30	2	10	3	1	40	70	70	30	10	50
II	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
III	30	70	50	80	50	30	20	3	0	0	0,1	0	0	0	0	0
IV	80	80	20	0,1	0	0	0	0	0,1	0	0	0	0	0	0	0
V	80	90	30	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
VI	20	80	50	10	0,1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
VII	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
VIII	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
IX	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
X	70	90	50	30	30	30	70	80	30	0	0,1	30	50	30	80	50

Eine besondere Bewertung beansprucht der Abschnitt zwischen der 55. und 67. Passage. Hier ist ein unbeabsichtigtes Experiment angestellt worden, indem, wie sich nachträglich herausgestellt hat, der zur Agarbereitung verwendete Fleischextrakt aus etwas angefaultem Material hergestellt worden war. Der Agar erwies sich natürlich als der Sporenbildung unzuträglich und so sehen wir dann, daß bei einigen Stämmen die wiedererlangte Sporenbildung verschwindet, und zwar charakteristischerweise um so schneller, je später in der Passagenreihe sie wiederaufgetreten war. Also am schnellsten bei IV und V, dann bei VI, dann erst bei III. Kolonie I und X zeigen überhaupt nur vorübergehende Beeinflussung des Sporulationsgrades. Zusammenfassend können wir sagen, daß die aus einer rein sporogenen Linie ohne gewollte Einwirkung schädigender Agentien bei einfacher 24-stündiger Agarpassage entstandenen asporogenen Kolonieen entweder diese Eigenschaft nur vorübergehend aufweisen oder sie halten sie eine lange Reihe von Generationen, die sich auf Monate erstreckt, fest, um dann ganz unvermittelt wieder zu sporulieren, oder endlich sie bleiben selbst dabei über ein halbes Jahr unverändert. Ueber die theoretische Bedeutung dieser Befunde soll weiter unten die Rede sein.

Zum Schluß sei noch bemerkt, daß auch in dieser Versuchsreihe ebenso wie im großen Umwandlungsversuch öfters in den Reihen A und B Kolonieen aufgetreten sind, die eine Mehrzahl bekapselter Stäbchen und Fäden enthielten. Während die Ausgangskultur keine solchen Kolonieen enthielt, habe ich in den Probeaussaaten aus diesen beiden Reihen gelegentlich bis zu 19 Proz. solcher Kolonieen finden können. Auch hier war ihr Auftreten etwas launisch — eine Generation hatte relativ viele aufzuweisen, die nächste konnte schon frei davon sein. Auch unter den Platten derselben Aussaat konnte die eine eine Mehrzahl kapselhaltiger Kolonieen aufgehen lassen, die andere vom gleichen Agarvorrat keine einzige. Meist waren diese Kolonieen auch sporenfrei, doch ist das nicht die Regel. Die Aussaaten der C-Reihe ließen sie immer vermissen.

IV. Theoretische Betrachtungen.

Nachdem wir im Vorhergehenden das reiche Tatsachenmaterial an uns haben vorbeiziehen lassen, wollen wir jetzt in einem theoretischen Rückblick versuchen, sie zusammenzufassen und nach Möglichkeit unter einen einheitlichen Gesichtspunkt zu bringen. Da unser Problem mit

Generated on 2019-09-15 14:49 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

der Frage der Erblichkeit im allgemeinen und bei Mikroorganismen insbesondere in engstem Zusammenhang steht, halte ich es für angebracht, hier einiges über die Sonderstellung der Bakterien in Vererbungsfragen näher auszuführen, was ich bereits kurz bei einigen früheren Anlässen gesagt habe (Berl. klin. Wochenschr. 1913. No. 4. 17.)

Diese Sonderstellung der Bakterien dokumentiert sich nach drei Richtungen hin:

1) Das Fehlen der geschlechtlichen Vermehrung vereinfacht zwar manche sonst verwickelten Fragestellungen und erleichtert das Arbeiten mit reinem, homogenem Erbmaterial, andererseits aber läßt es bei der Uebertragung der hier gewonnenen Erkenntnisse auf höhere Lebewesen größte Vorsicht geboten erscheinen.

2) Der Generationsbegriff bei den freilebenden Einzelligen ist nicht identisch mit dem Begriff der Individuenfolge, wie das bei höheren Lebewesen der Fall ist. Als Generationsdauer bezeichnen wir bei Bakterien sowohl wie bei sonstigen ein- und vielzelligen Lebewesen die Zeit von der Loslösung eines Individuums vom mütterlichen Organismus bis zu seiner Vermehrung. Für das Erblichkeitsproblem erscheint aber diese Begriffsbestimmung als unzureichend. Bei einem höheren Tier oder einer Pflanze ist innerhalb dieser Zeit aus der befruchteten Eizelle ein großer Zellstaat innerhalb einer langen Reihe von Zellgenerationen aufgebaut worden — die Einzelzelle hat sich zu Zehntausenden bis zu Billionen von Zellen vermehrt. Die Eigenart der Vererbungserscheinungen bei Vielzelligen besteht nun darin, daß ein Zellindividuum — die Samenzelle — losgelöst aus diesem Verband die Eigenschaften des elterlichen Organismus auf die große Anzahl ihrer Abkömmlinge überträgt und auch weit entfernten Zellgenerationen ihre Eigenart aufzwingt. Will man Analoges bei den Bakterien suchen, so muß man sich sagen, daß hier die Vererbung von einer Zellgeneration zur anderen selbstverständlich erscheint wegen der direkten Kontinuität des ganzen Plasmas — es wird ja der mütterliche Organismus geteilt — und eine erbgleiche Teilung vorausgesetzt, muß jede Tochterzelle alles enthalten, was in der Mutterzelle vorhanden war. Diese Anschauung — von Weissmann zuerst ausgesprochen — hat denn auch manche Forscher dazu veranlaßt, die Erblichkeit auch sogenannter „erworbener Eigenschaften“ bei den Einzelligen als etwas Selbstverständliches und von der Erblichkeit bei den Vielzelligen prinzipiell Verschiedenes hinzustellen. Ich glaube mit Unrecht. Diese Gründe gelten nämlich höchstens für eine Zellgeneration und auch für diese eigentlich nur unvollkommen, nämlich nur für den Moment der Zellteilung. Beim Wachstum vergrößert sich ja die Zelle und gliedert neues organisches Material dem bereits vorhandenen an, das seinerseits wieder zum Teil katabolisch eliminiert wird. Verfolgen wir diesen Vorgang über etwa ebensoviel Zellgenerationen, als bei einem höheren Vielzelligen die Eizelle vom erwachsenen Individuum trennen, so wird das Plasma der Ausgangszelle (selbst wenn es in materieller Integrität noch vorhanden sein sollte) einen ebenso kleinen Bruchteil der Gesamtmasse der abgeleiteten Individuen ausmachen, wie die Masse der Geschlechtszelle im Vergleich zur Masse des aus ihr entwickelten Individuums. Von diesem Gesichtspunkt aus wird der Vererbungsvorgang bei den Einzelligen uns ebenso mysteriös erscheinen, wie derjenige bei den Viel-

Generated on 2019-09-15 14:49 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

zelligen — die Kontinuität kann wohl hier wie dort höchstens nur einen kleinen Bruchteil der organischen Masse betreffen — denjenigen, den Weissmann Keimplasma benannt hat. Wie dieses Keimplasma bei den Bakterien beschaffen ist — ob dasselbe mit einem der morphologisch oder färberisch differenzierbaren Anteile der Bakterienzelle zusammenfällt — darüber läßt sich momentan nichts sagen. Ich glaube jedoch, daß kaum das ganze Protoplasma der Bakterienzelle als Keimplasma anzusprechen sein dürfte, wenigstens scheint mir der Vorgang der Sporenbildung dafür zu sprechen, bei dem bekanntlich nicht der ganze Inhalt der Bakterienzelle zum Aufbau der Spore aufgebraucht wird, sondern gewisse Anteile der Zelle unverändert bleiben, um alsdann der Degeneration anheimzufallen [1]).

Um das Gesagte kurz zusammenzufassen, wollen wir sagen, daß bei der Analyse von Vererbungsvorgängen bei Einzelligen die Generationsfolge am besten nicht mit der Individuenfolge identifiziert wird, sondern um einen Vergleich mit den Vielzelligen zu ermöglichen, als Generation tunlich eine größere Reihe von Individualgenerationen zusammengefaßt wird. Wie weit diese Grenzen gesteckt werden sollen, ist natürlich schwer zu sagen — mit Rücksicht auf die Kontinuität der Lebensbedingungen wird vielleicht für praktische Zwecke eine 24-stündige Agar- (oder Bouillon-) Passage als Bakteriengeneration betrachtet werden dürfen (bei normal schnellem Wachstum). Wir haben es hier mit einer etwa millionenfachen Vermehrung der Bakterienmasse zu tun, die etwa 20 Individualgenerationen umfaßt — die Vergleichbarkeit mit der Entwickelung eines Vielzelligen aus der Eizelle ist wohl damit gegeben, wenn man von der Amphimixis absieht.

3) Andererseits ist freilich auch die rasche Individuenfolge bei den Bakterien nicht belanglos für die uns interessierenden Fragen. Sie erfordert ziemlich häufig wiederkehrende Teilungsperioden, die für den Angriff äußerer Faktoren wahrscheinlich ein günstigeres Objekt schaffen, als das Bakterium im Zwischenraum zweier Teilungen („sensible Periode"). Sodann schafft sie eine ziemlich große Kontaktfläche mit der Außenwelt, indem hier dieselbe Masse organischer Substanz in lauter winzigste Einheiten geteilt von allen Seiten der Einwirkung äußerer Faktoren zugänglich ist. Bei den vielzelligen dagegen ist, abgesehen von den unvergleichlich größeren Dimensionen der Zelleinheiten (mit relativ kleinerer Oberfläche), ein großer Teil der Zelloberflächen dem direkten Kontakt mit der Außenwelt entzogen, was eine größere Stabilität dieser Lebenssysteme bedingt (abgesehen von den komplizierten Regulationen). Die rasche Individuenfolge hat auch große Bedeutung für Auslesevorgänge, die natürlich hier viel öfter eingreifen können, als bei der trägeren Folge der höheren Lebewesen.

4) Ein weiterer wichtiger Faktor bei Vererbungsversuchen mit Bakterien ist die Tatsache, daß hier immer mit Populationen, d. h. großen Ansammlungen von Individuen gearbeitet werden muß. Das legt natürlich die Forderung nahe, deren Bedeutung für die Biologie besonders von Vilmorin, Johannsen u. a. erkannt wurde, die Forderung nämlich,

1) Vergleiche die in ähnlichem Sinne gehaltenen Ausführungen von Reichenbach in seinem gehaltvollen Vortrag (Arch. f. soz. Hyg. Bd. 8. 1913. H. 3. p. 323—351.)

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 14:49 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

nach Möglichkeit nur mit „reinen Linien", d. h. mit erblich homogenem Material zu arbeiten. Ich habe schon früher darauf hingewiesen, daß die hierzu nötige Einzellkultur bei Bakterien nicht nur das Burrische Tuscheverfahren, sondern unter gewissen Kautelen auch durch das gewöhnliche Plattenverfahren erreicht werden kann. Dies ist um so wichtiger, als das Tuscheverfahren nicht bei allen Bakterienarten anwendbar erscheint (Baerthlein, Verf., Bernhardt und Ornstein u. a.). Doch selbst, wenn man über eine absolute Einzellkultur verfügt, ist die oben angedeutete Schwierigkeit nicht ganz behoben. Wir können zwar aus einem Keim züchten, wir können aber die einzelnen durch die Kultur hervorgebrachten Individuen nicht in Einzelzucht fortführen, sondern es muß immer mit Massenzuchten gearbeitet werden. Daß das manche biologischen Probleme nicht unerheblich kompliziert, ist ohne weiteres ersichtlich. Erscheinungen der Konkurrenz, der Auslese, verschiedene Lebensbedingungen für die aufeinanderfolgenden Individualgenerationen sind davon die Folge. Auch habe ich in der zweiten Mitteilung bereits darauf hingewiesen, daß nur wenige Merkmale der Bakterien, die als Objekte für experimentell-biologische Bearbeitung in Frage kommen, individuell zu ermitteln sind (Morphologie der Einzelkeime, Beweglichkeit, Sporenbildung) und auch diese mit den Einschränkungen, die durch die Massenkultur geboten erscheinen. Die meisten anderen (biochemische, serologische, pathogenetische Merkmale) sind eben nur an Massenkulturen festzustellen. Das ist nun insofern von Vorteil, als man leicht große Mengen von Individuen im Durchschnittsresultat ihrer Leistungen übersieht, wir gehen aber dabei jener Vorteile verlustig, die exakt geführte Individualanalysen der experimentellen Vererbungsforschung gewährleisten.

Nach diesen allgemeinen Ausführungen will ich nun an die kritische Besprechung der vorhin dargestellten Versuchsergebnisse herangehen. Der Zweck meiner Untersuchungen war, die Variationen des Sporenbildungsvermögens in ihrem Mechanismus klarzulegen. Um beim Ueberblick der Tatsachen einen vorläufigen Anhaltspunkt zu gewinnen, können wir diese Variationen in Uebereinstimmung mit der experimentellen Vererbungslehre in 1) Modifikationen, 2) Kombinationen und 3) Mutationen einteilen. Ich wähle diese Kategorieen von Baur, weil sie die einfachsten sind, will aber gleich hier bemerken, daß auch sie in der Anwendung auf unsere Probleme manche Lücken empfinden lassen. Modifikationen (fluktuierende Variabilität, Somationen) sind durch äußere Einflüsse bedingte und an die Dauer dieser Einflüsse mehr oder minder gebundene Manifestationsweisen angeborener Merkmale (phaenotypische Aenderungen nach Johannsen). Ihrer Entstehung gemäß sind sie nicht erblich. Mutationen sind (im erweiterten, jetzt in der Biologie allgemein eingeführten Sinne) stoßweise an einzelnen Individuen einer Sippe entstehende, nicht auf Amphimixis zurückführbare erbliche Aenderungen von Merkmalen. Die Kombinationen kommen als durch Amphimixis entstanden für uns nicht in Betracht. Außer diesen 3 Formen unterscheidet noch Beijerinck eine vierte, die Fluktuation, die, durch äußere Faktoren hervorgerufen, die Mehrzahl oder die Gesamtheit einer Sippe in erblicher Weise verändert. Ob diese Form (die der erblichen Variabilität anderer Autoren und dem von mir im vorigen Jahr gebrauchten Terminus „Umwandlung" entspricht) eine berechtigte Sonderstellung einnimmt, ist schwer zu entscheiden — die folgenden Ausführungen werden es als zweifelhaft erscheinen lassen.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 14:49 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Wir haben im ersten großen Umwandlungsversuch gesehen, daß unter dem Einfluß dysgenetischer Faktoren (Säureproduktion auf Glyzerinagar, supraoptimale Temperatur) ein gut sporulierender Stamm in einen asporogenen umgewandelt wurde. Wie soll man nun diesen Erfolg bewerten? Handelt es sich hier um die viel umstrittene Vererbung erworbener Eigenschaften? Oder, um das verfängliche Wort zu vermeiden: Liegt hier eine Aenderung der normalen Reaktionsweise durch äußere Faktoren vor, die auch bei Unterbleiben ihrer Einwirkung an den Nachkommen der Betroffenen ständig fortdauert? Wird die Frage in dieser Weise formuliert, so glaube ich sie für unseren Fall ohne weiteres bejahen zu müssen. Die Forderungen, die die experimentelle Vererbungslehre an solche Versuche stellt, sind folgende (nach Plate): „1) Muß eine Eigenschaft am Soma durch einen bekannten Reiz (Originalreiz) hervorgerufen worden sein; 2) muß diese Eigenschaft völlig neu sein, es darf sich also nicht um die Aktivierung einer latenten Anlage (Rückschlag, Atavismus) handeln; 3) in der nächsten oder einer späteren Generation muß sich dieselbe Eigenschaft zeigen trotz fehlenden Originalreizes".

Was nun den ersten Punkt betrifft, so ist es offensichtlich, daß bei Bakterien eine Unterscheidung somatischer und keimplasmatischer Beeinflussung unmöglich ist, daß hier (nach dem gegenwärtigen Stand unserer Kenntnisse) jede Einwirkung auf das Soma auch eine solche auf das Keimplasma (falls ein solches gesondert existiert) zur Folge haben muß. Die viel diskutierte Frage, ob somatische, ob Parallelinduktion, die den eigentlichen Gehalt der ganzen Streitfrage bildet, ist bei Bakterien wohl immer im Sinne der zweiten Eventualität entschieden. Daraus folgt, worauf schon hier hingewiesen werden mag, daß auch, wenn wir die Möglichkeit einer keimplasmatischen Umprägung durch äußere Faktoren dartun, damit für die Möglichkeit einer rein somatischen Umprägung bei höheren Lebewesen noch nichts bewiesen ist. Bezüglich der zweiten Forderung ist es freilich leichter, in jedem Fall zu vermuten, daß nur eine latente Anlage aktiviert wurde, als zu beweisen, daß diese Möglichkeit ausgeschlossen ist. Es bleibt ja immer für einen enragierten Gegner der „Vererbung erworbener Eigenschaften" der Ausweg offen, ein gelungenes Experiment durch Hinweis auf die Möglichkeit eines Rückschlags zu entwerten. In unserem Falle liegt nach meiner Ansicht keine Veranlassung vor, Derartiges anzunehmen — ein Zurückgreifen auf etwaige (übrigens ganz unbekannte) asporogene Ahnen des Milzbrandbacillus hätte wohl keine Berechtigung. Der dritten Forderung von Plate ist, wie wir gesehen haben, mehr als zu Genüge entsprochen worden.

Etwas anders formuliert seine Forderungen Semon. Sie lauten: „1) Die Untersuchung der Elterngeneration vor Eintritt der betreffenden Reiz- bzw. Erregungswirkung und gegebenenfalls die Feststellung durch Kontrollzüchtungen, daß bei Ausbleiben der Einwirkung auch regelmäßig die betreffende Manifestation auf dynamischem oder strukturellem Gebiet ausbleibt. 2) Der Vollzug der Reizeinwirkung und die Feststellung des Eintritts der betreffenden Manifestation bei der Elterngeneration. 3) Die Feststellung ihres Eintritts bei den Nachkommen der so behandelten Generation, ohne

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 14:49 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

daß diese Nachkommen der entsprechenden Einwirkung jemals selbst unterworfen wären, oder aber der Nachweis, daß die Manifestation nach Eintritt der Einwirkung bei ihnen auffallend viel leichter erfolgt (Erhöhung der Disposition)". Die zweite und dritte Forderung sind in unserem großen Umwandlungsversuch restlos erfüllt — die erste insofern, als eine durch strengste Auslese gereinigte und in 1000 Kolonieen kontrollierte reine Linie zum Versuch verwendet wurde. Auf die von Semon geforderte Kontrollzucht unter normalen Bedingungen will ich noch weiter unten zu sprechen kommen.

Ist aber durch unseren Versuch bewiesen, daß alle Individuen einer Kultur oder überhaupt alle Milzbrandstämme einer derartigen Umwandlung fähig sind? Was die zweite Frage betrifft, wäre sie erst nach ausgedehnten Untersuchungen zu beantworten — manche Angaben der Literatur sowie der unvollendete Versuch aus Tabelle VIII scheinen dafür zu sprechen, daß die Renitenz der einzelnen Milzbrandstämme eine recht verschiedene sein dürfte. Doch scheint es mir auch unberechtigt, wie manchmal in der Literatur geschehen ist, auf Versuche hin, die en bloc ohne Individualanalyse durchgeführt wurden, auch nur für einzelne Stämme die Möglichkeit einer Umwandlung in Abrede zu stellen. Diese Individualanalyse ist aber bei solchen Versuchen von allergrößter Wichtigkeit. Sie zeigt uns nämlich den Mechanismus der vor sich gehenden Umwandlung und zum Teil auch ihren Umfang. Wir erfahren dadurch, daß die Umwandlung durchaus nicht etwa kontinuierlich, sondern eher sprungweise oder mindestens schrittweise erfolgt, daß bereits nach kurzer Dauer einzelne Keime eine erbliche Umprägung aufweisen, während andere viel länger unbeeinflußt bleiben. Durch eine solche Individualanalyse wird es auch möglich sein, in Fällen, wo eine möglichst schonende Behandlung angezeigt erscheint (z. B. bei Herstellung von Vaccinen), schon nach kurzer Einwirkungdauer des angewandten Faktors die gewünschte Umwandlung zu erreichen. Es wird nicht uninteressant sein, hier darauf hinzuweisen, daß auch Wasserzug beim B. pyocyaneum, Schierbeck bei Milchsäurebakterien sowie Penfold bei seinen schönen Untersuchungen über die Beeinflussung des Gasbildungsvermögens aus Zuckerarten durch die Bakterien der Typhus-Coli-Gruppe durch ähnliche Individualauslese sehr früh zu positiven Umwandlungsresultaten gelangen konnte. Bei Versuchen, Bakterienarten gegen verschiedene Gifte zu festigen, wie sie in letzter Zeit vielfach gemacht wurden (Regenstein, Seiffert, Revis, Shiga u. a.), wird auch gewissermaßen durch das Gift selbst eine Individualanalyse bewerkstelligt.

Andererseits muß angesichts des Ausfalls der Ausleseversuche die Möglichkeit zugegeben werden, daß, trotzdem zu Ende des Umwandlungsversuchs alle 1000 Kolonieen der Probeaussaat sich als asporogen erwiesen haben, die Umwandlung nicht alle Individuen der benutzten reinen Linie betroffen hat. Wir haben ja in dem Versuch mit dem Gemisch einer sporogenen und asporogenen Rasse gesehen, daß bei 24-stündiger Fortzüchtung die asporogene Rasse wohl durch Auslese die Oberhand gewinnt. Sind also im Umwandlungsversuch einmal asporogene Anteile in beträchtlicher Zahl erschienen, so läßt sich für den weiteren Fortgang des Versuches nicht mehr sicher entscheiden, inwieweit die unverändert gebliebenen Individuen dem Schicksal der

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 14:49 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

bereits veränderten Keime folgen oder nur durch Auslesevorgänge ausgemerzt werden. Solange diese Frage nicht erledigt ist, wird es natürlich als verfrüht erscheinen, einen besonderen Typus von Variabilität — die Fluktuation — d. h. die Umwandlung aller oder fast aller Angehörigen einer Sippe aufzustellen. Dies um so mehr, als doch kein Hindernis vorliegt, selbst wenn alle Individuen umgewandelt werden, eine allmählich erfolgende Mutation aller Einzelkeime anzunehmen. Mit fortschreitender Einwirkungsdauer würde dann allmählich für jedes Individuum jene Reizschwelle erreicht, die nötig ist, seine Mutation zu veranlassen.

Wenn wir uns nun entschließen wollen, die von uns festgestellte Umwandlung in eine der vorhin erwähnten Kategorieen der Variabilität einzureihen, so ist die Wahl nicht leicht. Man könnte hier von Mutation sprechen (in diesem Sinne sprechen sich Baur sowie Goldschmidt aus), wenn man das Wort in der neuerdings immer mehr anerkannten erweiterten Bedeutung anwendet, die jede erblich fixierte durch äußere oder innere (meist wohl äußere und innere) Faktoren bedingte Variation umfaßt. Freilich wird dabei auf ein Merkmal verzichtet, das die meisten „spontanen" Mutationen auszeichnet — das unvermittelte Auftreten von Generation zu Generation. Ob die neue Form „in vollem Harnisch wie Pallas Athene aus dem Haupte des Zeus herausspringt" — um den schönen Vergleich von de Vries zu gebrauchen — wissen wir bei den Bakterien nicht und können es auch bei der gewöhnlichen Kulturweise nicht erfahren. Höchstens für diejenigen Versuche mit alten Sporen, die asporogene Sippen ergeben haben, könnte man annehmen, daß hier die Umwandlung während der Ruheperiode einer einzigen Zellgeneration stattgefunden hat — absolut bewiesen ist das freilich auch hier nicht wegen der Bouillonkultur und der darauffolgenden Entwickelung der Keime zu Kolonieen. Wenn wir aber die früher hervorgehobene Analogie einer Agarkultur, d. i. eines Komplexes von etwa 20—30 Zellgenerationen, mit einer Generation eines Vielzelligen uns in Erinnerung bringen, werden wir auf den Nachweis, daß der Umschlag gerade von einer Zellgeneration zur anderen hätte erfolgen müssen, nicht allzu großen Wert legen. Wer dies dennoch tut, müßte für die bei den Bakterien beobachteten Umwandlungen eine besondere Kategorie schaffen.

Wird die beschriebene Umwandlung als experimentell erzeugte Mutation aufgefaßt, so ist sie in die Kategorie der Verlustmutationen zu verweisen. Man hat derartige auf Verlust beruhende Umwandlungen in der Bakteriologie meist als Degenerationen bezeichnet und als solche etwas geringschätzend beiseite geschoben. Wenn auch zugegeben werden mag, daß beim Prozeß der Artbildung derartige Umwandlungen weniger in Frage kommen, als Erwerbsmutationen (bei manchen parasitären Arten, bei Höhlenbewohnern und anderen trifft auch dies nicht zu), so verdienen doch derartige Prozesse unsere vollste Aufmerksamkeit, indem sie einerseits uns Einblicke in den Mechanismus der Vererbung und Variabilität gestatten, andererseits aber in vielen Fällen von allerhöchster praktischer Bedeutung werden können. Sie können uns ja lehren, wie weit der Verlust von Merkmalen gehen kann, ohne die Existenz der Art zu gefährden, welche Merkmale leichter und welche schwerer zu beseitigen sind, auch über die Korrelation von Merkmalen können sie uns wichtige Aufschlüsse verschaffen.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 14:49 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Sodann kann nicht dringend genug davor gewarnt werden, Umwandlungen bei Bakterien als progressiv oder retrogressiv zu kennzeichnen, da wir über die biologische Bedeutung der Merkmale einerseits, über die Phylogenese der Bakterien andererseits viel zu wenig unterrichtet sind. Es kann auch ganz wohl eine Verlustmutation unter Umständen eine Anpassung der Art an die geänderten Lebensbedingungen bedeuten. So ist z. B. von Andrejew gezeigt worden, daß das Milzbrandvaccin auf Glyzerinagar geringere Säuremengen produziert, als der normale Milzbrand — man könnte nun versucht sein (wohlgemerkt ist das nur eine Hypothese), bei der Züchtung auf Glyzerinagar eine Anpassung in Form einer Aenderung des Stoffwechsels anzunehmen, deren Folge einerseits die Vermeidung übermäßiger Säure- (also Gift-)bildung, andererseits das Ausbleiben der Sporulation wäre.

Auch mag hier bemerkt werden, daß die asporogenen Stämme durchaus nicht immer den Eindruck einer herabgesetzten Lebenstüchtigkeit machen — und daß sie zwar selbstverständlich weniger widerstandsfähig als sporogene Stämme, nicht aber schwächer als andere von Hause aus asporogene Arten zu sein brauchen. Sie konnten vielfach auch nach ein- oder mehrmonatiger Aufbewahrung der Agarröhrchen ohne Schwierigkeiten fortgezüchtet werden (freilich nicht immer).

Jedenfalls wird es von Bedeutung sein, durch diese Untersuchungen in Uebereinstimmung mit denjenigen von Schierbeck über Milchsäurebakterien, von Penfold über die Typhus-Coli-Gruppe, von Preisz über Virulenz und Kapselbildungsvermögen bei Milzbrandbacillen zu lernen, daß Vorgänge, die wir gewohnt waren, als Anpassung, Degeneration u. dgl. für stetig fortschreitend zu halten, in Wirklichkeit sprungweise vor sich gehen können. Es wird sich wohl verlohnen, auch andere Beispiele dieser biologisch wichtigen Prozesse nach der Methode der Individualanalyse auf ihre Kontinuität resp. Diskontinuität hin zu untersuchen.

Ob neben dieser zeitlichen Diskontinuität eine ebensolche auf quantitativem Gebiet besteht — in der Weise, daß aus gut sporulierenden Individuen immer unvermittelt gleich vollständig asporogene entstehen, oder ob es Uebergänge zwischen beiden Extremen gibt, möchte ich vorläufig nicht entscheiden. Wegen der Mitwirkung kleiner vorübergehender Schwankungen des Sporulationsvermögens unter dem Einfluß äußerer oligodynamischer Faktoren ist diese Feststellung sehr erschwert und würde noch weitere eingehendere Untersuchungen erfordern. Ich habe jedoch den Eindruck gewonnen, daß hier nur 3 Typen vorkommen — der gut sporulierende mit einer Variationsbreite von 50—100 Proz. sporulierender Stäbchen, der schwach sporulierende mit 0,1—10 Proz. und der ganz asporogene. Wenn weitere Forschungen die Existenz dieser wenigen Typen ergeben sollten, so wäre damit natürlich die Diskontinuität der Uebergänge von einem zum anderen noch nicht ausgeschlossen.

Haben wir uns bis jetzt nur mit den dauernden Umwandlungen befaßt, so wollen wir jetzt den vorübergehenden, die in das Gebiet der Modifikationen gehören, unsere Aufmerksamkeit zuwenden.

Daß solche Schwankungen des Sporulationsvermögens unter der Einwirkung äußerer Faktoren vielfach vorkommen, ist durch die Arbeiten zahlreicher Autoren zur Genüge bekannt. Auch in meinen Versuchen haben wir sie vielfach angetroffen, besonders in denjenigen mit der Aus-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 14:49 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

saat lang aufbewahrter Sporen. Hier stoßen wir aber bereits auf Tatsachen, die eine absolut scharfe Unterscheidung erblicher und nicht erblicher Variationen in Frage stellen — es ist die Tatsache der sogenannten partiellen Erblichkeit oder der Nachwirkung. In manchen Fällen ist die schädliche Wirkung der langen Aufbewahrung durchaus nicht in der ersten unter günstigen Bedingungen aufgewachsenen Zellgeneration behoben — es müßten dann, da die Vorkultur in Bouillon erfolgte, überall lauter sporogene Kolonieen in der ersten Plattenaussaat aufkommen, wie bei den Stämmen A. Flügge und A. Kalb. Selbst die Reihe von Zellgenerationen, die die gekeimten Stäbchen in der Bouillonkultur durchmachen, reicht dazu nicht aus bei den anderen Stämmen, die Nachwirkung überdauert sogar eine oder einige Plattengenerationen, um dann normaler Sporenbildung Platz zu machen — zuweilen kränkeln die Stäbchen noch weiter, wie die herabgesetzten Sporulationszahlen beweisen, zuweilen bleibt die Asporogenie durch eine Reihe Umzüchtungen bestehen [1]). Wo ist hier nun die Grenze zu ziehen? Wie lange muß eine durch äußere Faktoren geänderte Reaktionsweise eines Organismus anhalten, um als erblich fixiert betrachtet zu werden?

Aehnliches beobachteten wir an den Probeaussaaten des unvollendeten Umwandlungsversuchs (Tab. VIII). Sowohl in der Kontrollreihe als auch in den beiden anderen erschienen hier sporenfreie Kolonieen, die zum Teil auf Agarröhrchen in einigen (5.—7.) Generationen ihre Asporogenie bewahrten, oder aber doch Sporulation aufwiesen, und zwar gleich im ersten Röhrchen in normaler Höhe (80—90 Proz.). Noch merkwürdiger erwies sich die Probeaussaat aus der 4. Glyzerinagarpassage. 2 Kolonieen davon, beide im mikroskopischen Präparat sporenfrei, wurden wieder auf Platten gebracht und die aufgegangenen Kolonieen untersucht. Die Aussaat der einen wies 20 sporenfreie Kolonieen auf — die der anderen 21 sporenfreie und 9 gut versporte (90—95 Proz.). Die eine Kolonie erwies sich bei der Nachkommenschau als asporogen — die andere spaltete in gut sporogene und asporogene Anteile.

Noch interessanter sind die Verhältnisse im letzten Versuch (Tab. IX, X u. XI). Zunächst sehen wir im Hauptversuch, wie trotz Fernbleibens gewollter schädigender Faktoren die Sporulationsverhältnisse starken Schwankungen unterworfen sind und wie in der B-Reihe zuletzt die Probeaussaaten sporenfrei bleiben. Es war nun interessant zu erfahren, ob die hier aufgetretene Asporogenie erblich sich erweisen würde. Die der Beantwortung dieser Frage dienenden Schrägagarpassagen (Tab. XI) ergaben das bemerkenswerte Resultat, daß der Grad der erblichen Fixierung bei den 10 im Erhitzungsversuch und im Präparat als sporenfrei befundenen Kolonieen ein ganz verschiedener war. Die Stabilität der erzielten Asporogenie erstreckte sich nämlich bei den einzelnen Kolonieen auf 3—8—18—25—32—42—44—47 Schrägagarpassagen — bei 2 Kolonieen blieb sie während der ganzen 54 Passagen erhalten. Welche Kolonieen sollen nun als erblich, welche als vorübergehend asporogen bezeichnet

1) Hierher gehört wohl der Befund von Weil an Sporen des B. mesentericus ruber; mäßige Erhitzung derselben ergab keine Schädigung der Sporenresistenz in ihrer Nachkommenschaft, länger dauernde verursachte bei der Nachkommenschaft die Produktion von sehr wenig widerstandsfähigen Sporen (2 Generationen lang beobachtet).

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 14:49 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

werden? Welche sind als mutiert, welche als nur modifiziert anzusprechen? Hätte ich in diesem Fall wie in den früheren Versuchen mich mit 5—7 Passagen begnügt, so würden 9 Kolonieen als erblich asporogen gelten können. Und wie soll die 7. Kolonie bewertet werden, die nach 47 sporenfreien Passagen 4mal spärliche bis wenige Sporen aufwies, um dann wieder die Sporulation zu sistieren?

Wir gelangen mit diesen Fragen in ein fast jungfräuliches Gebiet der noch relativ jungen Vererbungslehre. Aus naheliegenden Gründen konnten bisher bei höheren Lebewesen noch nicht so lange Generationsreihen auf ihre Konstanz hin geprüft werden, und was an historisch überliefertem Material in diesen Fragen vorliegt, kann doch nicht als absolut feststehend betrachtet werden. Speziell in der Frage experimentell erzeugter Modifikationen resp. Mutation ist das Material noch zum größten Teil zu jungen Datums, als daß man eine der unserigen auch annähernd gleich lange Generationsreihe überblicken könnte. Sind wir aber in dieser Frage auf unser eigenes Material angewiesen, so glaube ich folgende Lösung vorschlagen zu dürfen, die übrigens auch mit manchen Tatsachen in der Biologie der Vielzelligen gut übereinstimmt.

Danach wäre die Erblichkeit, wie überhaupt alle biologischen Begriffe, nicht als etwas Absolutes aufzufassen — sondern als relativ und zeitlich begrenzt — es gäbe Abstufungen der Erblichkeit resp. ihrer Dauer, die von 0 bei den Modifikationen bis zu unendlich großen — unsere Erfahrung und die Tragweite des Experiments überschreitenden Größen (Festigkeit der Gattungsmerkmale) anwachsen kann. Je nach der Art der eine Variation bedingenden Einflüsse, je nach ihrer Intensität und Wirkungsdauer wird auch die Tiefe und Dauerhaftigkeit der dadurch in die lebende Substanz eingegrabenen Engramme — um das bekannte Symbol von Semon zu gebrauchen — variieren. Kurzdauernde, schwach wirksame Reize oder stärkere, die in einer refraktären Periode einwirken, werden rasch verklingende Nachwirkungen hervorrufen, langdauernde, intensive oder auch schwächere, die eine „sensible Periode" treffen, werden nachhaltige Umwandlungen hervorrufen. Wenn wir uns an die Theorie der Erbeinheiten halten wollen, d. h. die Annahme von materiellen Substraten erblicher singulärer Merkmale (mit Beijerinck) akzeptieren, so werden diese Faktoren je nach ihrer Natur und ihren Wirkungsbedingungen einzelne Gene entweder latent machen oder zerstören oder in ihrer Wirkung modifizieren oder endlich vielleicht sogar die Bildung neuer Gene bewirken können. In vielen Fällen wird man wohl am ehesten ein Inaktivwerden von Genen unter dem Einfluß äußerer Agentien annehmen. Wenigstens ließe sich diese Annahme am besten mit der Tatsache der Rückschläge resp. der begrenzten Erblichkeit vereinbaren. Das Gen oder die Gruppe von Genen, die die Sporulation bedingen, wird durch dysgenetische Faktoren inaktiviert — nach einer Reihe von Generationen wird durch Aufhören der Nachwirkung oder vielleicht unter Einfluß eines Gegenreizes das Gene wieder reaktiviert. War die Einwirkung sehr stark — wie z. B. in den großen Passagenreihen auf Glyzerinagar — so kann vielleicht das Gen ganz zerstört werden und dann wäre eine Wiederkehr der Sporulation unmöglich, außer daß etwa seine Neubildung erfolgte.

Generated on 2019-09-15 14:49 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Daß eine derartige begrenzte Erblichkeit (von der partiellen, die nur bei einem Teil der Nachkommen das Merkmal reproduziert, sei hier vorderhand abgesehen) wirklich vorkommt, zeigen sowohl Erfahrungen der zoologischen und botanischen Vererbungslehre, als auch Tatsachen der experimentellen Mikrobiologie, die hier wegen ihres besonderen Interesses angeführt werden mögen.

So fand Wasserzug beim B. pyocyaneum, daß die bei Aussaat aus alten Kulturen erzielten farblosen Spaltlinge manchmal sogleich in der zweiten, zuweilen aber erst in der vierten Bouillonpassage ihre Chromogenität wiedererlangten. Smirnow berichtet, daß aus Milzbrandblut, das 10—15 Minuten lang auf 50° C erhitzt wurde, Kulturen mit rasch vorübergehender Abschwächung erhalten wurden, daß dagegen eine halbstündige Erhitzung haltbare Abschwächung hervorrief. Nach Laurent wächst das B. prodigiosum unter Anaërobiose farblos — wird es in aërobe Bedingungen zurückgebracht, so wirkt die Beeinträchtigung 1—2 Passagen nach. Auch bei Belichtung von Prodigiosum-Kulturen war schwächere oder kürzere Belichtung von passageren Perturbationen der Farbstoffbildung gefolgt — längere oder stärkere ergab dauernd farblose Rassen. Besonders interessante Tatsachen über die begrenzte Erblichkeit haben die exakten Untersuchungen von Penfold über die Anpassung von B. typhi an Dulcit und Mannit ergeben. Bei kurzer Anpassungsdauer war die Haltbarkeit des erreichten Zuckerspaltungsvermögens nur begrenzt eventuell nur auf einen Teil der Nachkommenschaft beschränkt — je länger die Keime trainiert wurden, desto dauerhafter erwies sich die Umstimmung. Dasselbe Resultat ergaben die Anpassungsversuche von Walker mit Streptokokken. Wegen der großen Uebereinstimmung mit meinen in Tab. XI niedergelegten Befunden möchte ich hier (Tab. XII) den Verlauf eines solchen Versuchs mit Inulin wiedergeben. Stamm **M**, der bereits nach 2-wöchigem Training Inulin zu vergären lernte, behielt die Eigenschaft auch nach 3-monatiger Züchtung in Agar ohne Inulin — der widerspenstigste Stamm **G**, der 8 Wochen Lehrzeit brauchte, verlernte die neue Eigenschaft, nachdem er 3 Monate lang außer Kontakt mit dem Inulin blieb und ließ sich selbst durch neuerliche 2-wöchige Kultur auf Inulinnährboden nicht dazu bringen, den Zucker zu vergären.

Tabelle XII.

(Nach E. W. A. Walker.)

Verlauf eines Anpassungsversuchs mit verschiedenen Streptokokkenstämmen. In.-B. = „Lemco"-Bouillon mit Inulin; 0 = keine Vergärung; + = Vergärung.

Stamm	Ursprüngliches Verhalten gegen Inulin	Nach 14-tägiger Kultur in In.-B.	Nach 24-tägiger Kultur in In.-B.	Nach 5-wöch. Kultur in In.-B.	Nach 8-wöch. Kultur in In.-B.	Nach weiterer 3-mon. Kultur in gewöhnl. Agar	Nach neuerlicher 14-täg. Kultur in In.-B.
L	0	0	+	+	+	0	+
P	0	0	0	+	+	0	+
S	0	0	+	+	+	0	+
G	0	0	0	0	+	0	0
M	0	+	+	+	+	+	+

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 14:49 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Schierbeck gibt an, daß bei Passagen über Karbolmilch eine reine Linie von Milchsäurebakterien Individuen abspaltete, die zum Teil eine dauernde, zum Teil eine vorübergehende Herabsetzung des Gärungsvermögens aufwiesen. Ebenso fand Wolf bei B. prodigiosum sowie bei Myxococcus bei Passagen auf $CuSO_4$-Phenol- sowie $K_2Cr_2O_7$-Agar neben konstant weißen Spaltlingen auch solche, die nur eine Zeitlang die Farbenabweichung beibehielten. Auch ich werde in den folgenden Mitteilungen noch Gelegenheit finden, über derartige Erfahrungen zu berichten. Auch bei Trypanosomen liegen ähnliche Befunde vor; Wendelstadt und Fellmer beobachteten bei einem Naganastamm sowie bei Tr. Lewisi, daß sie nach verschiedenen Kaltblüterpassagen, in die Ratte zurückgebracht, eine abnorme Größe erreichten, die sich einige Rattenpassagen lang erhielt, um dann allmählich zur Norm zurückzukehren. Werbitzki erzielte bei Tr. Brucei durch Behandlung mit Farbstoffen von orthochinoidem Typus einen Stamm ohne Kinetonucleus. Bei nachträglichen Passagen durch unbehandelte Tiere erwies sich ein solcher Stamm während 50 Passagen konstant, ein anderer wies nach der 16. Passage 7 Proz. Individuen mit Kinetonucleus auf — dieser Prozentsatz stieg dann weiter, um bei der 27. 100 Proz. zu erreichen.

Aus dem ungerechtfertigten Verlangen, eine durch äußere Faktoren herbeigeführte Funktionsherabsetzung müsse unter allen Umständen bestehen bleiben, wenn sie als „Umstimmung" betrachtet werden soll, erklären sich manche Mißdeutungen in der Variabilitätsliteratur. Als Beispiel sei die sonst ausgezeichnete Studie von Schierbeck angeführt. Durch fortgesetzte Passagen in Karbolmilch gelang es diesem Forscher, Milchsäurebakterien zu einer dauernden Herabsetzung ihres Milchzuckerspaltungsvermögens zu bringen. Trotzdem will er das Resultat nicht als Entstehung einer neuen Rasse gedeutet wissen, weil es ihm einmal gelang, in einer besonderen Milchprobe das normale Gärvermögen wieder zu beobachten. Bei Zurückbringen des Stammes in gewöhnliche Milch war auch die verminderte Säurebildung wieder da. Es steht meiner Ansicht nach nichts im Wege, hier eine „dauernde Umstimmung", oder — um modern zu reden — eine Mutation anzunehmen. Auf Bedingungen, die der Ausgangsstamm mit normaler Säurebildung beantwortet, reagiert der mutierte mit herabgesetzter — und behält diese Eigenschaft dauernd bei, auch bei Züchtung in Normalmilch. Daß unter besonderen Umständen einmal das inaktivierte Gen doch noch aktiviert werden kann, ist nicht weiter auffällig, da hier eben durch besondere neue Reizwirkung eine Rückmutation eintreten kann. Wenn man, wie Schierbeck es tut, die Sache einfach als „allgemeine Schwächung der Bakterienzelle" behandelt, so wird man ihrer Eigenartigkeit und biologischen Bedeutung gar nicht gerecht.

Die verschieden tiefgreifende Beeinflussung der Bakterien durch äußere Faktoren kann sich außer durch Festhalten des erworbenen Merkmals auch dadurch kundgeben, daß auch, wenn dasselbe verschwunden ist, es auf neuerliche Einwirkung des auslösenden Reizes oder eines ihm nahekommenden leichter in Erscheinung tritt als bei Individuen derselben Art, aber ohne die spezifische Vorgeschichte. Mit anderen Worten — außer der bestehenden eventuell vorübergehenden Aenderung der Reaktionsnorm kann auch die erhöhte Reaktionsbereitschaft als Folge der Beeinflussung gelten — neben der aktuellen Aenderung besteht eine potentielle. Als Beispiel

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 14:49 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

dafür möchte ich aus Tab. XI das Verhalten der einzelnen Kolonieen nach der 54. Passage anführen; wir sehen hier, daß zwei Stämme, die schon lange wieder ununterbrochen sporuliert hatten (I und X) nur eine mäßige oder geringe Perturbation ihres Sporenbildungsvermögens erleiden. Die Kolonieen IV, V und VI die erst kürzere Zeit ihr Sporulationsvermögen wiedererlangt hatten, setzen mit der Sporenbildung bald aus — sie sind zur Asporogenie mehr „disponiert".

Wenn wir die oben dargestellte Anschauung über die Vererbbarkeit äußerer Bewirkungen — sie gilt wohlgemerkt vorläufig nur für asexuell sich vermehrende Mikroorganismen — in ihren Konsequenzen verfolgen, kommen wir zur Ueberzeugung, daß alsdann der Unterschied zwischen Modifikation und Mutation kein absoluter ist, wie es bisher meist galt, sondern lediglich ein relativer. Sie stellen die Endglieder einer Reihe vor, die mit steigender Intensität oder Einwirkungsdauer der bewirkenden Reize sowie mit steigender Empfänglichkeit des Mikroorganismus an Extensität und Dauerhaftigkeit des Erfolges stufenweise zunimmt. Das gilt vor allem von experimentell erzeugten Mutationen — doch ist es ja wohl zweifellos, daß auch die sogenannte spontane Mutation nichts anderes ist als die durch die idoplasmatische Konstitution bedingte, durch äußere Faktoren provozierte Umwandlung — also prinzipiell von der „künstlich" herbeigeführten nicht verschieden. Die Endglieder dieser Kette werden selbstverständlich leicht voneinander sich unterscheiden lassen und für sie mögen die disjunktiven Bezeichnungen „Modifikation" und „Mutation" weiter ihre Geltung bewahren, doch muß man sich dessen bewußt bleiben, daß auch die Möglichkeit von Uebergangsformen der Variabilität gegeben und durch das natürliche wie das Laboratoriumsexperiment oft verwirklicht erscheint.

Diese Ueberlegung führt uns auch dazu, einen Zusammenhang zwischen den von uns experimentell erzeugten Umwandlungen und der spontanen Variabilität anzunehmen. Auch an ihren natürlichen Standorten sind ja die Mikroorganismen vielerlei dysgenetischen Einwirkungen ausgesetzt, die an ihnen Umwandlungen mehr oder minder tiefgreifender Natur bewirken. Vergegenwärtigt man sich, daß solche Umwandlungen das Produkt der äußeren Faktoren einerseits, der idioplasmatischen Konstitution (Genotypus) andererseits sind, so wird man es begreiflich finden, daß eigentlich die Variabilitätsrichtungen im allgemeinen schon im Arttypus gegeben sind, und daß wir unter natürlichen fluktuierenden oder konstanten Varietäten oft diejenigen wiederfinden, die unser Umwandlungsversuch uns liefert. Nur wird man vielleicht annehmen können, daß in der Natur große und andauernde Aenderungen der Existenzbedingungen, die nicht letal wirken, seltener vorkommen, jedenfalls seltener so konsequent gerichtet sind, wie unsere im Laboratoriumsversuch gebräuchlichen Faktoren. Sind sie es, so werden sie Mutationen resp. dauernde Varietäten hervorbringen — sind sie von geringerer Intensität und kürzerer Einwirkungsdauer, so provozieren sie die fluktuierende Variabilität. Es wird wohl als ziemlich wahrscheinlich hingestellt werden können, daß auch in der freien Natur öfters dauernd oder temporär asporogene Milzbrandrassen vorkommen. Daß erst einmal eine solche festgestellt worden ist (Müller), kann einerseits auf

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 14:49 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

ihre größere Fragilität, andererseits vielleicht auf unsere Isolationsmethoden zurückgeführt werden. Im allgemeinen müssen wir uns ja sagen, daß unsere Isolierungsmethoden auf gewisse zum Teil willkürlich festgesetzte Idealtypen zugeschnitten sind und oft durch ihre Eigenart die Entdeckung einer abweichenden Spielart unmöglich machen (Hefferan, Revis).

Ich möchte nicht verfehlen, hier mit Genugtuung darauf hinzuweisen, daß die hier vertretene Anschauung über die Erblichkeit der Umwandlungen sowie über den Zusammenhang zwischen Modifikationen und Mutationen nicht isoliert dasteht. Bernhardt und Ornstein, denen wir ausgedehnte und erfolgreiche Untersuchungen über die „natürliche" Variabilität der Bakterien verdanken, kommen auf Grund ihres von dem meinigen verschiedenen Tatsachenmaterials ebenfalls zu der Ansicht, daß ganz scharfe Grenzen zwischen Modifikationen und Mutationen kaum zu ziehen sind. Auch in der allgemeinen Erblichkeitslehre scheint sich diese Einsicht allmählich Weg zu bahnen, wenn man auch natürlich die oben ausführlich diskutierten Differenzen der Untersuchungsobjekte nicht aus dem Auge verlieren darf. Als Beweis dafür sei folgende Stelle aus dem trefflichen Buch von Goldschmidt angeführt: „Und das führt zu der weiteren Frage, ob denn wirklich ein so prinzipieller Unterschied zwischen Mutation und Variation besteht. Nehmen wir die oben gegebenen Tatsachen, so bleibt als wesentliche Differenz nur das Erblichkeitsmoment übrig.... Aber auch diese Differenz kann nicht die Bedeutung beanspruchen, die sie auf den ersten Blick zu haben scheint. Besteht doch die Tatsache, daß ein und dieselbe fluktuierende Variation als nicht erbliche und als erbliche Form auftreten kann.... Ein prinzipieller Unterschied zwischen Mutation und fluktuierender Variation besteht nicht. Ein und dieselbe Variante kann fluktuierend sein oder erblich werden und ist dann eben eine Mutante. Daß die gewöhnlichen Varianten nur so selten erblich sind, die extremen aber, die Mutanten, stets, könnte darin seine Ursache haben, daß ein und derselbe Reiz, der die Variation bedingt, sie nur erblich werden läßt, wenn er in besonderer Stärke wirkt. Zur Erzeugung der Mutanten sind aber überhaupt nur besonders starke Reize, extreme Bedingungen, nötig." In ähnlichem Sinne äußern sich von Biologen Delage, Plate, Lotsy, Semon.

Es ist für jeden offensichtlich, daß die hier behandelten Fragen mit dem Problem der Entstehung der Arten in engem Konnex stehen. Als ich vor ca. $1^1/_2$ Jahren bei der Mikrobiologentagung in Berlin (1911) über einen Teil der hier niedergelegten Tatsachen unter dem Titel „Ueber Artumwandlung beim Bac. anthracis" berichtete, wurde seitens einiger Redner gegen diese Bezeichnung energisch Einspruch erhoben. Die Herren Opponenten, Schüler Kochs, glaubten mit dem verfänglichen Namen das durch konsequente und oft mühevolle Arbeit des Meisters errichtete Gebäude der Lehre von der Artkonstanz angetastet zu sehen. Ich glaube mit Unrecht. Nichts lag mir ferner, als jene an Versuchsfehlern und Selbsttäuschungen so reiche Zeit des Streites um die Konstanz der Arten wieder heraufzubeschwören. Stellt man sich die Frage, ob die hier besprochenen Erscheinungen der Variabilität imstande sind, neue Arten zu schaffen oder mit anderen Worten ob die dadurch bewirkten Umwandlungen über die Grenzen der Art hinausführen, so wird die Antwort verschieden ausfallen müssen, je

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 14:49 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

nachdem man den Begriff der Art zu formulieren geneigt ist. Während man sich früher mit den Linnéschen Arten als scharf umschriebenen und stabilen Einheiten bei der Beschreibung der Lebewesen begnügte, haben fortschreitende Erkenntnis neuer Formen und Zwischenformen sowie Verfeinerung der Untersuchungsmethoden diese Einheit in eine Reihe von kleineren innerhalb der Beobachtungszeit immer noch stabilen, durch kleinere Merkmale unterscheidbaren Gruppen zerbröckelt. Die Großart ist in Kleinarten oder Elementararten zerfallen. Die moderne Vererbungslehre geht noch weiter, indem sie zum Zweck der Erblichkeitsanalyse „reine Linien" aus der Kleinart herausschält, die sich etwa nur in bezug auf ein Merkmal voneinander konstant unterscheiden lassen. So werden z. B. „reine Linien" von Bohnen mit bestimmtem fixierten Zuckergehalt voneinander abgetrennt. Bezieht sich nun die Frage nach der Wandelbarkeit auf die Kleinart oder die reine Linie, so ist sie unbedingt zu bejahen — bezieht sie sich auf die Großart, so muß sie vorderhand noch unentschieden gelassen werden.

Besondere Schwierigkeiten erwachsen natürlich in bezug auf diese Fragen auf dem Gebiete der Mikrobiologie. Erstens deshalb, weil hier überhaupt die Artunterscheidung angesichts der meist unzureichenden morphologischen Merkmale sich mehr oder weniger auf physiologische Merkmale stützen muß, die im allgemeinen labiler sind als die ersteren. Zweitens stehen hinter vielen bakteriologischen Diagnosen streng umschriebene praktische Interessen. Wird nun im Interesse der Seuchenbekämpfung oder der Technik die Notwendigkeit betont, die Artdiagnosen möglichst scharf und eindeutig zu gestalten und die Arten nicht allzu sehr zu „pulverisieren", so ist dagegen gewiß nichts einzuwenden und wird man auch weiterhin im praktischen Gebrauch an der Großart festhalten müssen. Anders, wenn es sich um theoretisch-biologische Erkenntnis handelt — hier ist „amicus Plato, magis amica veritas" — oder mit anderen Worten, hier dürfen wir uns der Erkenntnis von der großen Variabilität der Bakterien nicht verschließen und dürfen in dem Bestreben nach Vereinheitlichung der Mannigfaltigkeit der Erscheinungen keine Gewalt antun. Ueber die Grenzen der bakteriologischen Großart hinaus scheint meist die Mutabilität nicht hinauszugehen — wenn auch in manchen Fällen (Diphtherie, verschiedene Typen der Ruhr- und Fleischvergiftungsbakterien), wo vielleicht Kleinarten aus praktischen Gründen selbständig benannt wurden, auch darüber Zweifel aufkommen dürften. Die Mutabilität betrifft dann entweder Verlust mancher Eigenschaften, die vielleicht sogar zur Speciesdiagnose verwendet wurden (Agglutinabilität, manche biochemische Merkmale, Sporulationsvermögen, morphologische Kennzeichen) oder aber sie bringt Aenderungen dieser Eigenschaften hervor, die aber im Idioplasma der betreffenden Großart als präformiert (in potentia) gedacht werden dürfen, da wir sie vielleicht bei anderen nächstverwandten Kleinarten wiederfinden. In diesem Sinne wird man die Bedeutung der Mutationen für Neubildung von Arten (sc. Großarten) vorläufig nicht zu hoch anschlagen. Daß aber Kleinarten auf diese Weise entstehen können resp. ineinander umwandelbar sind, glaube ich nach dem vorliegenden Material annehmen zu dürfen.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 14:49 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Ja noch mehr, die Erkenntnis von der Variabilität und Plastizität der Kleinarten wird uns mit der Zeit dazu verhelfen, die Großart besser und genauer in ihrem inneren Aufbau kennen zu lernen. Wenn wir erkannt haben, welchen Grad von Tenazität einzelne Merkmale aufweisen, werden wir sie auch biologisch und taxonomisch besser würdigen können, und es wird sich wohl zeigen, daß für die Großart der Variationsbereich und die Variationsformen mancher Merkmale ebenso charakteristisch sein können, wie die Stabilität anderer. Um nur ein Beispiel unter vielen zu zitieren — die Unfähigkeit des Typhusbacillus, Laktose zu vergären, ist ein allen Anpassungsversuchen trotzendes Merkmal (Penfold), nur Twort gelang es einmal durch 2-jährigen Training, einen Stamm zur Vergärung zu bringen — und auch dieser zeigte, wenn dem Einfluß der Laktose entzogen, große Neigung zu Rückschlägen. Ebenso waren auch alle bisherigen Versuche, dem Typhusbacillus dauernd die Agglutinabilität zu entziehen, vergeblich: Ich selbst habe vor Jahren durch Züchtung bei 42° dies nach einer Reihe von Passagen teilweise erlangt, doch kehrte bei weiterer Fortzüchtung bei 42° anscheinend mit erhöhter Anpassung die Agglutinabilität wieder zurück. Demgegenüber gibt es viele andere Merkmale, die mit Leichtigkeit den Bakterien „abgewöhnt" werden können — die also scheinbar nicht zum „eisernen Bestand" der Großart gehören.

Man wird sich diesen Erwägungen von der Variabilität der Kleinarten um so weniger verschließen können, wenn man bedenkt, daß die Umwandlungen durchaus nicht einzelne Merkmale zu treffen brauchen, sondern daß oft Komplexe von Merkmalen eine Aenderung erfahren können. In der vorliegenden Arbeit wurde nur ein, und zwar biologisch hochwichtiges Merkmal herausgegriffen, um die recht schwierigen und mühevollen Untersuchungen nicht unnötigerweise zu komplizieren — die üppig sich entwickelnde Variabilitätsforschung lehrt uns aber jeden Tag die Veränderlichkeit neuer Merkmale kennen und auch Beispiele korrelativer Aenderungen zweier Merkmale sind nicht unbekannt. Speziell bezüglich des Milzbrandbacillus sei hier auf die ebenso gedankenreiche wie gründliche Arbeit von Preisz nochmals verwiesen, die den Zusammenhang zwischen Virulenz, Sporogenität und Kapselbildungsvermögen illustriert. Wir ersehen daraus, wie unter dem Einfluß verschiedener dysgenetischer Faktoren diese drei Merkmale bei verschiedenen Stämmen in verschiedener Richtung zum Teil unabhängig voneinander variieren (mutieren) können und wie dadurch eine Reihe von Typen geschaffen wird, die sich zum Teil sehr weit vom Ideal des „Milzbrandbacillus" entfernen.

Wenn wir dazu noch bedenken, daß bei Bakterien derartige Umwandlungen in der relativ kurzen Zeit von Tagen oder Wochen erfolgen können, so wird man nicht umhin können, wie ich es bereits vor Jahren getan habe, von einer großen Plastizität des Bakterienprotoplasmas zu sprechen, die bei den Vielzelligen wohl kaum zu erwarten ist. Wenn Schlemmer dagegen eingewandt hat, diese Plastizität würde nur durch die schnelle Generationsfolge der Bakterien vorgetäuscht, so muß ich ihm meine früheren Erörterungen über den Generationsbegriff bei Bakterien entgegenhalten. Wenn danach eine Agarpassage als etwa gleichwertig einer Generation eines Vielzelligen

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 14:49 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

betrachtet wird, so besteht die Tatsache, daß innerhalb einer kurzen Reihe von Generationen (3—20) sehr tiefgreifende Aenderungen des Idioplasmas bei Bakterien erzielt werden können. Ihre relativ große Oberflächenentwickelung, die ein großes Angriffsgebiet den äußeren Faktoren bietet, sowie die leichte Zugänglichkeit ihres Keimplasmas dürften wohl dafür verantwortlich zu machen sein. Bei den höheren Lebewesen erfordert wahrscheinlich die höhere Differenzierung auch eine besser gewahrte Stabilität des Systems.

Daß übrigens dieser ganze Gedankenkomplex nicht gar so ketzerisch ist, wie es vielleicht manchem scheinen möchte, dafür will ich als Kronzeugen niemand anderen als unseren mit Recht verehrten Großmeister Koch anführen. Derselbe sagte gerade bezüglich der Milzbrandbacillen: „Ich möchte erklären, daß ich nicht etwa ein prinzipieller Gegner der Lehre von der Umzüchtung einer Art in eine andere nahe verwandte bin und durch eine auch die Abänderung pathogener Organismen in die schädliche und umgekehrt für nicht außer den Bereich der Möglichkeit liegend halte". Und an einer anderen Stelle, nachdem er die von Pasteur behauptete Umwandlung in ein Vaccin nachgeprüft hatte: „Diesen selben Standpunkt nehme ich auch jetzt noch ein und halte nunmehr, nachdem der Beweis für die Umzüchtung der Milzbrandbacillen in exakter Weise gebracht ist, dieselbe für eine feststehende Tatsache, verlange aber für weitere Umzüchtungsversuche ebenso unwiderlegliche Beweise".

Noch eine andere Folgerung glaube ich gerade aus der letzten Serie meiner Untersuchungen ziehen zu müssen. Es wurde von Semon für Umwandlungsversuche verlangt, durch Kontrollzuchten die Unveränderlichkeit der unbeeinflußten reinen Linie zu sichern. Meine Versuche mit Züchtung auf gewöhnlichem Agar haben gezeigt, daß es nicht immer leicht sein wird, bei Arbeiten mit Bakterien dieser Forderung zu genügen. Bei manchen Bakterienarten läßt sich wohl die reine Linie bei bestimmter Zuchtweise (besondere Nährböden, gewisse Umzüchtungstermine, optimale Wachstumsbedingungen) rein erhalten. Bei Milzbrandbacillen — und wahrscheinlich nicht nur bei ihnen — ist ohne besondere Auslese die reine sporogene Rasse nicht rein zu halten. Ueberimpft man nicht allzu oft, aber auch nicht allzu selten — jede 3—7 Tage vielleicht — so kann man konstant, einwandsfreie Bedingungen vorausgesetzt, relative Reinheit erzielen. Will man volle Reinheit bewahren, so scheint es, daß man von Zeit zu Zeit oder regelmäßig Auslese eingreifen lassen muß. Entweder wird also immer wieder von einzelnen gut sporogenen Kolonieen weitergezüchtet, oder man säubert das Material durch Erhitzen auf 80°. Je nach der Stabilität des in Frage stehenden Merkmals wird in verschiedenen Fällen die reine Linie verschieden lange Zeit den wechselnden Einwirkungen äußerer Faktoren standhalten können — ihre Unveränderlichkeit kann höchstens für ganz bestimmte, nicht immer leicht konstant zu haltende Bedingungen Geltung haben. Wir werden also durch unsere Erfahrungen zu demselben Schluß geführt, den Semon auf Grund allgemein-biologischer Tatsachen in folgendem Passus ausgedrückt hat: „Da es aber feststeht, daß auch reine Linien bei längerer Andauer der Zucht unter dem Einfluß der stets wechselnden Außenbedingungen sich erblich verändern können und — ich glaube, man kann dies schon heute allgemein behaupten — sich erblich verändern müssen, so wird eben

Generated on 2019-09-15 14:49 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

aus jeder reinen Linie selbst bei strengster Inzucht mit der Zeit wieder eine Population, und innerhalb dieser kann und muß dann wieder die Zuchtwahl ihre Macht entfalten". Auch in unserem Fall bemächtigt sich, wie oben dargetan, die Zuchtwahl der einmal entstandenen asporogenen Anteile, und dieses Zusammenspiel von provozierter Mutation und Auslese kann zu den extremen Resultaten führen, die der große Umwandlungsversuch gezeitigt hat. Es erhellt aber daraus auch, daß an dem Ausgang dieses Versuches nicht nur die darin angewandten dysgenetischen Faktoren beteiligt sind, sondern daneben noch unmerkliche Schädigungen, wie sie auch auf gewöhnlichen Nährböden unseren Bacillen auflauern, und die durch jene Faktoren eine Steigerung erfahren — und zuletzt noch die Auslese, die das Werk eventuell zu Ende führt.

Schlußsätze.

1) Eine durch verschärfte thermische und mechanische Auslese erhaltene rein sporogene Milzbrandlinie konnte durch Züchtung auf Glyzerinagar resp. bei 42° C in eine rein asporogene umgewandelt werden. Tausend Kolonieen einer Probeaussaat der Ausgangskultur erwiesen sich als gut sporogen, ebensoviele am Ausgang des Versuches als konstant asporogen. Die so erhaltenen asporogenen Linien hielten 30—40 täglichen Agarpassagen sowie einer Reihe von Tierpassagen stand, ohne die Sporogenität wiederzuerlangen.

2) Die Umwandlung erfolgt nicht kontinuierlich und gleichmäßig an allen Angehörigen einer Kultur, sondern schritt- oder sprungweise. Durch Individualauslese gelingt es relativ rasch, in den Besitz asporogener Kulturen zu gelangen.

3) Verschiedene Stämme setzen der Umwandlung eine verschiedene Resistenz entgegen.

4) Bei Aussaat aus 6—9 Jahre lang aufbewahrten Sporenfäden erhält man zuweilen Kolonieen mit vorübergehender oder dauernder Asporogenie — also Modifikationen oder Mutationen. Der bewirkende Reiz trifft hier eine einzelne Generation.

5) Ein aus einer reinen sporogenen und reinen asporogenen Linie hergestelltes Gemisch erwies sich nach 30 8-stündigen Agarpassagen als rein asporogen, nach 15 1-tägigen Passagen als fast asporogen, nach 8 2-tägigen als fast rein sporogen. Die Verschiebungen sind zu einem großen Teil auf Auslesevorgänge zurückzuführen.

6) Auch reine sporogene Linien können bei 8- resp. 24-stündiger Fortzüchtung auf gewöhnlichem Agar starke Schwankungen ihres Sporulationsvermögens aufweisen, die zum Teil dauernd, zum Teil vorübergehend asporogene Anteile hervorbringen. Fortzüchtung in etwas weiteren Zeitabständen, z. B. jede 3 Tage, ist der Erhaltung der Sporogenität förderlich.

7) Zwischen rasch vorübergehender Beeinflussung der Sporulation, die in der nächsten Passage bereits ausgeglichen wird, und 50—60 Pas-

Generated on 2019-09-15 14:49 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

sagen unverändert andauernder Asporogenie beobachtet man bei der Fortzüchtung auf gewöhnlichem Agar eine ganze Reihe von fließenden Uebergängen.

8) Durch paarmalige Vorzüchtung auf Agar mit schwächeren Lithiumchloridlösungen konnte ein Milzbrandstamm dazu gebracht werden, in Gegenwart von solchen Konzentrationen zu gedeihen, die beim unvorbehandelten Stamm kein Wachstum zuließen. Parallel mit der Anpassung an die Entwickelungshemmung ging eine solche auf morphochemischem Gebiet.

9) Die hier beschriebenen experimentellen Wandlungen gehören teils in die Kategorie der Modifikationen, teils in diejenige der Mutationen.

(Weitere Schlüsse allgemeiner Natur sowie Literatur folgen am Schlusse der V. Mitteilung.)

Nachdruck verboten.

Sur les produits des microbes en association.

[Institut pour l'étude des maladies microbiennes
(Dir.: Henry Spahlinger, Genève).]

Par le Dr. **Ignace Schiller.**

Au cours de recherches que nous avions entreprises sur les bactéries lactiques de l'intestin, nous avons pu isoler des selles d'un chien normal un bacille, qui d'après des caractères biologiques et biochimiques se rapproche beaucoup du bacille acidophile décrit par Moro.

Cet auteur l'avait isolé des matières fécales des nourrissons élevés au sein en employant comme milieu un bouillon acide.

Les colonies de notre bacille ont les caractères principaux suivants: dans la gélose profonde glucosée elles ont une forme irrégulière avec des prolongements chevelus rayonnants tout au tour. Le bâtonnet en question reste coloré par la méthode de Gram; il ne donne pas de spores. Sur gélose inclinée et sucrée il forme un voile qui ressemble beaucoup à celui des streptocoques.

Ce bacille pousse à la température du corps mais aussi à 20—22°. A son contact le lait est coagulé après 36 heures; la coagulation commence par le fond et s'étend peu à peu vers la surface. Dans le bouillon glucosé il donne après 12 heures un trouble. L'acidité produite dans le lait de 2,5° tandis que celle dans le bouillon glucosé est de 1,4° toutes les deux évaluées à H_2SO_4.

Il nous a paru intéressant de rechercher quelle serait in vitro l'influence de notre bacille sur diverses espèces microbiennes pathogènes ou saprophytes mises à son contact ou du moins quelle serait son action sur les substances que ces derniers sont capables de produire comme par exemple le phenol et l'indol.

Notre attention a été tout d'abord attirée par un fait curieux: le bacille isolé par nous possède un pouvoir prononcé de détruire en très

Generated on 2019-09-15 14:49 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

peu de temps dans les milieux de cultures liquides les streptocoques d'un très grand nombre de provenance [1]).

En effet si l'on ensemence dans un bouillon glucosé, contenant une culture assez jeune du bacille en question, un streptocoque quelconque, ce dernier est tué d'habitude après un séjour de 18 heures à l'étuve à 37°. A la fin de ce délai, si on examine en préparation colorée (Gram-fuchsine) cette culture mixte c'est-à-dire contenant à la fois notre acidophile et le streptocoque ajouté on s'aperçoit de suite que les bâtonnets seuls sont restés colorés en violet foncé tandis que les streptocoques ne prennent plus le Gram. Après un séjour plus long à la même température, par exemple pendant une semaine, les streptocoques sont alors tellement altérés qu'ils sont reduits en une masse amorphe vivement colorée en rouge par la fuchsine. Ce phénomène est très vraisemblablement du à une action bactériolytique; ce fait nous paraît d'autant plus intéressant vu la difficulté d'obtenir par d'autre moyen la bactériolyse des cocci.

Si nous prélevons de cette culture mixte une petite quantité et si nous l'ensemençons dans du bouillon frais nous n'obtenons après 24 heures qu'une culture pure du bacille acidophile.

Devant ce fait bien établi par de multiples expériences nous nous sommes demandés par quel moyen le microbe acidophile parvenait-il à détruire le streptocoque, en un mot quel est le mécanisme qui y intervient.

Comme les substances produites par les bâtonnets, dans le bouillon glucosé, sont en majeur partie de l'acide lactique (nous l'avons constaté d'après la méthode d'Uffelmann) il aurait été logique de supposer à priori que la déstruction serait dûe à cet acide. Or il n'en est rien. Nous l'avons déjà mentionné: l'acidité produite par notre microbe dans le bouillon glucosé est de 1,4° évaluée en H_2SO_4. Mais d'autre part l'acidité du streptocoque dans le même milieu est légèrement plus élevée. Disons en passant que le streptocoque produit lui-même de l'acide lactique.

Par conséquent la présence de l'acide lactique dans les milieux de culture mixte n'a pas d'action empêchante pour le streptocoque.

Dès lors il était tout indiqué d'étudier le phénomène dans un milieu alcalin; dans ce cas même la destruction des streptocoques était constante à condition qu'on ait soin d'ajouter à la culture du bâtonnet en question de petites quantités de streptocoques; en faisant ainsi nous avons vu au contact des bactéries acidophiles la même quantité de streptocoques que dans l'expérience précédente mais par petites fractions.

D'autre par le filtrat stérile d'une culture de notre bâtonnet (en bouillon glucosé) [2]) n'a aucun effet bactéricide sur le streptocoque, au contraire il y pousse abondamment et cela que les bâtonnets soient morts ou vivants au moment de la filtration [3]).

1) La nature des milieux qui ont été utilisés pour la culture de ces streptocoques n'a aucune importance à cet égard.

2) Dans les expériences suivantes nous aurons toujours recours à ce milieu car il est le milieu de choix pour les acidophiles.

3) Nous l'avons tué par la chaleur et par un séjour le plusieurs mois à l'étuve. Ces derniers faits prouvent que ce ne sont pas les produits de décomposition albumineuse qui détruisent le streptocoque.

Generated on 2019-09-15 14:49 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Après ce qui précède nous sommes autorisé nous semble-t-il, à conclure que la déstruction est due à la présence dans le filtrat des cultures mixtes d'une substance nocive pour les streptocoques et sécrétée par le bâtonnet seulement en présence du streptocoque ou de ses produits. (Produits dûs à l'action vitale ou à la déstruction du streptocoque.)

Cette substance devrait également être recherchée seulement dans les milieux où le streptocoque a été tué par les bâtonnets.

Pour celà nous avons ensemencé dans un tube de bouillon glucosé où ce sont développés des bacilles depuis 18 heures, toute la masse de streptocoque raclée à la surface d'une boîte de Roux; les streptocoques sont préalablement débarassés par centrifugation de tout liquide. Dans ce mélange les streptocoques étaient tués après 36 heures de séjour à 37°.

Nous nous sommes demandé si le filtrat stérile du milieu précédent dans lequel la destruction du streptocoque a été faite n'aurait pas agit de la même façon.

Ce filtrat que nous appellerons désormais filtrat mixte est en effet aussi bactéricide qu'une, culture du bâtonnet vivant mise en présence du streptocoque. Quand on y ensemence une culture de ce dernier (débarassée du liquide) microbe, celle-ci est détruite d'habitulle déjà en 36 heures.

Comme nous l'avons mentionné plus haut nous pourrions déjà conclure que la présence du streptocoque provoque la sécretion de la substance bactéricide dans le milieu.

Cependant on pourrait nous objecter que les produits albuminoides dérivés de la destruction des streptocoques et qui existent dans ce filtrat mixte pourraient avoir une action tout aussi nocive pour les streptocoques.

Pour répondre à cela nous avons fait l'expérience suivante: nous avons filtré des cultures du streptocoque en bouillon glucosé — les unes tuées par la chaleur, d'autres vieilles de 3 mois. Ces filtrats étaient non seulement dépourvus de toute espèce d'action bactéricide et bactériolytique mais souvent ils présentaient pour certaines races de streptocoque un milieu favorable pour le développement.

D'après ce que nous venons de mentionner ni le filtrat du streptocoque ni celui du microbe acidophile ne renferment de substance nocive pour les streptocoques; il en est de même pour le mélange de ces deux filtrats.

La substance bactéricide peut être aussi produite par le bâtonnet aussi en absence du streptocoque; dans ce dernier cas cette substance est fournie par les bacilles dans des cultures de streptocoques filtrées. Dans ce but nous avons ensemencé dans un filtrat de culture de streptocoque le bâtonnet acidophile. Au bout de 24 heures nous nous sommes assuré que le bacille s'était développé; cette culture a été filtré, après quoi elle s'est montré très bactéricide vis à vis du streptocoque. —

La substance bactéricide en question agit encore sur le streptocoque dans une dilution de 1 : 5.

Les faits que nous venons d'exposer seront mieux compris si on les envisage comme des phénomènes d'irritation de la cellule vivante en l'espèce chez les bacilles acidophiles isolés par nous.

La cellule microbienne comme la cellule des êtres d'echelles plus élevés réagit selon la nature des irritations exercées sur elles de diffé-

Generated on 2019-09-15 14:49 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

rentes manières: elle peut réagir en changeant son aspect morphologique, elle le peut aussi en changeant les produits de sa vitalité (changement de qualité ou de quantité).

Les facteurs qui déterminent chez la cellule une orientation vers de nouvelles formes peuvent être désignés comme des irritations formatives[1]); la bactériologie nous en fournit un nombre considérable d'exemples. Nous en citerons quelques un.

Metchnikoff dans ses études sur le vibrion cholérique rapporte le fait suivant.

Ce vibrion peut être empêché de pousser par la présence d'un coccus blanc isolé de l'air; il ne donne alors que des colonies rares et pauvres. „Ce qui est plus remarquable encore c'est que dans ces conditions le vibrion revêt un aspect tout particulier. Au lieu de se présenter comme un petit vibrion il se montre sous forme de doubles massues très grandes et absolument semblables à ces formes d'involution qu'on connait surtout chez le bacille de la tuberculose."

Bordet a observé le fait suivant: en injectant dans le péritoine d'un cobaye une dose mortelle de streptocoques ces derniers sont, en partie, englobés par les phagocytes. Cependant il reste toujours quelques microbes libres et bientôt ces microbes se multiplient. Ils ont ce caractère particulier qu'ils se sont entourés d'une auréole qui se colore en rose par le bleu de Kühne et qui n'existe pas dans les cultures injectées.

Ils donnent au bout de deux ou trois heures, en général, naissance à de nouveaux individus, auréolés comme eux, doués comme eux de la propriété de se dérober à l'englobement, et qui se présentent sous forme de diplocoques ou de chaînettes courtes. —

Les fluctuations, variations et mutations microbiennes, tant quelles concernent la forme sont dues aux irritations formatives.

Mais comme nous l'avons déjà mentionné, les microbes peuvent aussi sous l'influence des conditions irritantes sécréter des substances différentes de celles qu'elles élaborent à l'état normal.

Bordet a pu observer que les streptocoques qui sous l'influence irritante du milieu sont devenues auréolés sécrètent une substance si défavorable pour les phagocytes que les derniers ne sont plus en état d'englober les microbes. D'après Bordet il s'agirait ici d'une action de chimiotaxie négative.

Marmorek en pleine conscience du principe de l'irritation a essayé d'augmenter in vitro le pouvoir toxique des streptocoques et du bacille de la tuberculose.

Il introduisait dans les milieux de culture habituels des leucocytes d'animaux normaux ou de ceux qu'il avait préalablement immunisé avec le microbe corréspondant. Pour exercer le pouvoir irritant sur le bacille de la tuberculose il ajoutait dans le bouillon glycériné du sérum leucotoxique du veau (sérum du veau préparé avec les leucocytes du cobaye).

Comme il admettait aussi que le foie du cobaye possède un certain pouvoir défensif vis à vis du bacille de la tuberculose il l'introduisait dans le bouillon; par ce procédé il croyait pouvoir stimuler le microbe de façon qu'il produise une quantité plus considérable de toxine.

1) C'est la terminologie que C. Herbst (Formative Reize) a introduite dans la biologie expérimentale.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 14:49 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Les conclusions que nous tirons de nos expériences sur le bacille acidophile et le streptocoque concordent parfaitement avec tout ce que nous venons de dire à propos du principe de l'irritation.

Sous l'influence du streptocoque le bacille sécrète une substance qu'il ne produit jamais dans les milieux où il a poussé seul. Mais nous attachons une importance particulière au fait que la substance sécrétée a un pouvoir nettement bactéricide vis-à-vis du streptocoque. En effet nous croyons que la substance en question est l'expression du pouvoir défensif du microbe.

Cette hypothèse est en parfait accord avec nos connaissances biologiques actuelles, c'est à dire avec les moyens que possède l'espèce pour sauvegarder son existence. Sans moyen de défense, la vie des microbes serait imaginable; cette défense peut se manifester de différente façon, mais la seule qui nous intéresse en ce moment est celle qui a trait à une production de substances bactericides.

Nous croyons que la recherche de ces substances bactéricides-défensives peut avoir un intérêt aussi bien théorique que pratique, surtout dans les cas où il s'agit de saprophytes agissant contre des organismes pathogènes.

Des substances pareilles obtenues par moyens biologiques nous remplaceraient les spécifiques chimiques qui sont si difficiles à trouver quand il s'agit d'organismes microbiens.

Nachdruck verboten.

Zum Befunde choleraähnlicher Vibrionen bei Kindern.

[Aus der Abteilung für allgemeine Pathologie des Kaiserl. Institus für experimentelle Medizin und aus dem St. Petersburger Nikolai-Kinderhospital (Direktor: N. K. Wiaglinsky).]

Von Privatdozent Dr. **W. N. Klimenko.**

Bald nach der Entdeckung des Choleravibrios durch Robert Koch erschienen in der medizinischen Literatur Beschreibungen von Vibrionen verschiedener Art. Systematische Untersuchungen einiger Forscher [Dunbar (1), Kutscher (2) u. a.] zeigten, daß Vibrionen in der Natur sehr verbreitet sind. Man kann sie im Ueberflusse zu einer gewissen Jahreszeit in fließenden und stehenden Wässern und in dem Darminhalt der Tiere [der Schweine (Kutscher)] finden, wohin sie wahrscheinlich mit dem Wasser gelangen. Alle zur Cholera nicht gehörigen Vibrionen nannte man bequemlichkeitshalber choleraähnliche [Kolle (3) u. a.]. Letztere wurden öfters durch verschiedene Forscher aus den Darmausleerungen der Menschen gezüchtet [z. B. durch Finkler und Prior (4), Pasqual (5), Gotschlich (6), Hetsch, Kolle, Lentz und Otto (7), N. M. Berestnew (8), M. N. Margulies (9), D. K. Zabolotny, S. J. Zlatogorow, G. S. Kulescha und W. J. Jakowlew (10), Rothe und Meinicke (11), Baerthlein (12), Fr. Sparmberg (13), L. Kandyba (14), G. Bernhardt (15), Craster (16), Bürgers (17) u. u.]. Anfangs wurden die Vibrionen nur in warmen Ländern gefunden; in letzter Zeit wurden sie

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 14:49 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

aber auch bei in der gemäßigten Zone lebenden Menschen gefunden. In den allermeisten Fällen wurden die Vibrionen bei Leuten, die an Darmstörungen litten, beobachtet. Bis jetzt ist noch nicht ermittelt, ob die Vibrionen irgendeine Bedeutung in der Pathologie des Menschen haben. Einige von ihnen stehen nach ihren morphologischen, kulturellen und biologischen Eigenschaften den Choleravibrionen so nahe, daß man sie von den letzteren nur mit Hilfe der biologischen Reaktionen trennen kann. Außerdem ist durch die Untersuchungen von S. J. Zlatogorow (18) festgestellt worden, daß man zuweilen zu den choleraähnlichen Vibrionen auch die Choleravibrionen gezählt hat, weil die letzteren einige ihrer Eigenschaften verlieren (hauptsächlich die Eigenschaft, sich mit Hilfe des Choleraagglutinationsserums zu agglutinieren). Letzterer Umstand, der von großer Bedeutung für die Epidemiologie der Cholera ist, erfordert es, den choleraähnlichen Vibrionen des Menschen besondere Aufmerksamkeit zu widmen.

Im Anfange des Jahres 1913 erstaunte ich bei einer mikroskopischen Untersuchung der Darmausleerungen eines sehr schwer scharlachkranken Mädchens, das in der unter meiner Aufsicht stehenden Abteilung für Infektionskrankheiten des Nikolai-Kinderhospitals lag, über das Bild dieser Ausleerungen, denn ungefähr 40—50 Proz. aller Mikroorganismen des Ausstrichs waren Vibrionen. Bekanntlich kommen solche großen Quantitäten von Vibrionen in den Ausstrichen von Ausleerungen nach den Angaben von W. Kolle und W. Schürmann (19) nur bei der Cholera vor. In Erwägung dessen wurden die Ausleerungen in Peptonwasser und auf Petri-Schalen mit Agar ausgesät. In beiden Nährböden entwickelte sich nach 18 Stunden eine reichliche Menge von Vibrionen, aus deren beinahe die Hälfte aller Kolonieen auf den Schalen mit Agar bestand. Der sofort unternommene Agglutinationsversuch mit Choleraagglutinationsserum mit dem Titer von 1 : 6000 (letzteres erhalten aus dem Pestlaboratorium des Forts Alexander I. in Kronstadt) gab sogar in der Lösung von 1 : 10 ein deutliches negatives Resultat.

Die Reaktion auf Agglutination wurde bei 37 und 55° C ausgeführt. Die Probiergläser mit Suspensionen des Vibrios, den man untersuchte, + Agglutinationsserum wurden bei dieser Temperatur während 24 Stunden gehalten. Die Kontrollagglutinationsprüfungen mit 2 Kulturen von Choleravibrionen, die von Cholerakranken bei der letzten Choleraepidemie in Petersburg gezüchtet wurden, zeigten, daß das Serum tadellos ist; es agglutinierte die Vibrionen beider Kulturen in den auf den Etiketten bezeichneten Titergrenzen (1 : 6000) nach $1^1/_2$ Stunden bei 37° C, nach $^1/_2$ Stunde bei 55° C. Auf diese Weise konnte ich auf Grund der Agglutinationsreaktion den gezüchteten Vibrio nicht als Choleravibrio anerkennen.

Die weitere Untersuchung des beschriebenen Vibrio zeigte, daß er sich in seiner Morphologie vom Choleravibrio durchaus nicht unterscheidet. Bei ihm wurde nur 1 Geißel gefunden (Färbung nach Zettnows Methode). Nach Gram ließ er sich nicht färben, Säurefestigkeit besaß er nicht. Auf Agar, auf Dieudonnés Nährboden und auf Kartoffel wuchs er wie ein Choleravibrio. Die Milch machte er nicht gerinnen. Gelatine und geronnenes Ochsenserum verflüssigte er sehr stark. Bei seiner Entwickelung in Bouillon trübte er sie und bildete auf der Oberfläche eine dünne Haut. 24-stündige Kultur dieses Vibrio in Peptonwasser erzeugte mit Schwefelsäure nur eine schwache Nitrosoindolreaktion. Er besaß aus-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 14:49 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

gesprochene hämolytische Fähigkeit für Schaferythrocyten. Die Experimente wurden mit Blutagar und mit Bouillon, der 5 Proz. gewaschener Schaferythrocyten zugefügt waren, unternommen. Das Filtrat der 24-stündigen Bouillonkultur des beschriebenen Vibrio war außerdem hämolytisch für dieselben Erythrocyten. 1 ccm des Filtrats, dem 5 ccm 5-proz. Schaferythrocytensuspension in physiologischer Lösung (0,85 Proz.) von Chlornatrium zugefügt wurde, löste sie im Verlaufe von 1 Stunde bei 37° C vollkommen auf. Der beschriebene Vibrio war für Meerschweinchen und Tauben sogar im Quantum einer 2-tägigen Schrägagarkultur unschädlich; ersteren wurde er als Suspension in die Bauchhöhle, letzteren in die Brustmuskeln eingeführt. Bezüglich des Fehlens der Virulenz des Vibrios für Meerschweinchen konnte leider der Versuch mit dem Phänomen von Pfeiffer nicht gemacht werden.

Um festzustellen, ob der gezüchtete Vibrio in einer Beziehung zu der Darmstörung der Kranken steht, wurde von ihr Blut entnommen. Mit dem daraus erhaltenen Serum wurde ein Versuch auf Agglutination und Bakteriolysine (in vitro) vorgenommen. Beide Reaktionen gaben absolut negative Resultate, für den beschriebenen Vibrio spezifische Antikörper waren im Serum der Kranken nicht vorhanden. Das Blut war von der Kranken am 9. Tage nach Beginn des Scharlachs und des Durchfalls entnommen worden.

Da zu dieser Zeit unter den in der Scharlachabteilung liegenden Kranken sehr viele an leichten Darmstörungen litten, unternahm ich eine allgemeine Untersuchung der Kranken. Die Untersuchung der Darmausleerungen wurde nach der allbekannten Methode, die zur Züchtung der Choleravibrionen aus den Exkrementen vorgeschlagen ist, ausgeführt, und 30 Kranke sind von mir untersucht worden.

Die mikroskopische Prüfung der Darmausleerungen ergab auf dem Ausstriche Vibrionen, die zu züchten mir in 3 Fällen gelang, und zwar in 2 Fällen mit Hilfe der „Anreicherungsmethode“ und in einem gleichzeitig in Peptonwasser, auf Agar und auf Dieudonné-Nährboden.

Die 3 gezüchteten Kulturen der Vibrionen erwiesen sich in ihren morphologischen, kulturellen und biochemischen Eigenschaften mit dem von der ersten Kranken gezüchteten Vibrio vollständig identisch. Ich muß noch bemerken, daß nur bei der ersten der 3 genannten Kranken die Exkremente flüssig waren. Auffallend ist es, daß bei dem letzten Kranken der Vibrio mit Hilfe der „Anreicherungsmethode“ gezüchtet worden war, während er bei dem einen der anderen kranken Kinder durch unmittelbare Aussaat des Kotes auf Agar und Dieudonné-Nährboden gezüchtet wurde.

Auf die beständige, bakterioskopisch bestätigte Anwesenheit der Vibrionen in den Darmausleerungen der kranken Kinder dieser Abteilung untersuchte ich in derselben Richtung noch 19 Kranke meiner anderen Scharlachabteilung, 8 Kinder, die sich in der Diphtherieabteilung des Hospitals befanden, und 2 Kinder des Laboratoriumsdieners in der Abteilung für allgemeine Pathologie des Instituts für experimentelle Medizin.

Bei der mikroskopischen Untersuchung der Darmausleerungen fand ich bei allen 29 Kindern ohne Ausnahme Vibrionen, aber in sehr geringer Zahl; sie zu züchten, gelang jedoch nicht. Ich benutze noch hier die Gelegenheit, um zu bemerken, daß ich bei bakterioskopischen Untersuchungen der Darmausleerungen während meiner Kurse für Cholera-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 14:49 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

diagnose, die ich schon 5 Jahre 2mal jährlich leiten muß, fast immer im Kote Vibrionen, jedoch in sehr geringer Zahl, vorgefunden habe. Die Darmausleerungen stammten von vollkommen gesunden Menschen.

Bei dem ersten der genannten 4 Kranken wurden die Darmausleerungen 21 Tage nach der ersten Untersuchung nochmals geprüft; nochmals gelang es, Vibrionen, jedoch nur mit Hilfe der „Anreicherungsmethode" durch Peptonwasser, zu züchten.

Das vergleichende Studium der 5 gezüchteten Vibrionen, die ich mit No. 1, 1a[1]), 2, 3 und 4 bezeichne, zeigte, daß sie in ihren morphologischen, kulturellen und biochemischen Eigenschaften identisch sind. Deswegen will ich die gezüchteten Vibrionen nicht beschreiben, um mich nicht zu wiederholen, ich werde nur auf die bereits gegebene Charakteristik des Vibrio No. 1, den ich aus den Darmausleerungen meiner ersten Kranken kultiviert habe, hinweisen.

Da es bei dem gegenwärtigen Stande der Bakteriologie zur Charakteristik irgendeiner Gruppe der Bakterien notwendig ist, sie auch in serologischer Hinsicht zu prüfen, so immunisierte ich 4 Kaninchen mit den Kulturen jedes der 4 von mir gezüchteten Vibrionen und außerdem noch ein Kaninchen mit Kulturen des Choleravibrios. Die Kaninchen wurden jede Woche nach den allgemeinen Regeln durch Einführen zunehmender Quantitäten erst getöteter, darauf lebender Kulturen der Vibrionen in die Ohrvene immunisiert. Jedem Kaninchen wurden 6 Einspritzungen gemacht. Am 7. Tage nach der 5. Einspritzung der Vibrionen wurde jedem Kaninchen aus der Ohrvene eine kleine Quantität Blut entnommen.

Mit dem erhaltenen Blutserum wurden einleitende Versuche auf Agglutination und Komplementablenkung gemacht, welche positive Resultate ergaben. Die Kaninchen wurden 10 Tage nach der 6. Einspritzung

Tabelle No. 1.

Agglutinationsversuche mit Serum, erhalten bei Immunisierung mit Vibrio No. 1. Serumtiter 1:1000.

Grad der Verdünnung des Serums	Vibrio No. 1	Vibrio No. 1a	Vibrio No. 2	Vibrio No. 3	Vibrio No. 4	Vibrio cholerae asiaticae aus den Darmentleerungen eines Cholerakranken	Vibrio cholerae asiaticae aus Newawasser
1:2	+	+	+	+	+	—	—
1:10	+	+	+	+	+	—	—
1:50	+	+	+	+	+	—	—
1:100	+	+	+	+	+	—	—
1:200	+	+	+	+	+	—	—
1:400	+	+	+	+	+	—	—
1:600	+	+	+	+	+	—	—
1:800	+	+	+	+	+	—	—
1:1000	+	+	+	+	+	—	—

Erklärung der Zeichen: + bedeutet das positive Resultat des Agglutinationsversuches, — das negative.

1) No. 1 und 1a sind Kulturen, die zum 1. und 2. Male aus den Darmausleerungen meiner ersten Kranken gezüchtet waren.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 14:49 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

entblutet. Mit dem erhaltenen Serum wurden Agglutinations- und Komplementablenkungsversuche gemacht.

Das Serum, das mit Hilfe des Vibrio No. 1 erhalten wurde, agglutinierte die Vibrionen No. 1, 1a, 2, 3 und 4 bis zur Titergrenze, übte aber auf die Choleravibrionen sogar bei einer Verdünnung von 1 : 2 keine Wirkung aus (Tabelle No. 1).

Die Tabellen mit den Resultaten der Agglutinationsversuche mit den Seren, die von den Kaninchen, welche mit den Vibrionen No. 2, 3 und 4 immunisiert worden waren, erhalten wurden, will ich nicht zitieren; sie würden mit der Tabelle No. 1 vollkommen identisch sein. In bezug auf die erwähnten Seren teile ich folgendes mit: Seren, welche von Kaninchen erhalten waren, die mit den Vibrionen No. 2, 3 und 4 immunisiert wurden, hatten den Agglutinationstiter von 1 : 900. Sie agglutinierten die Vibrionen No. 1, 1a, 2, 3 und 4 bis zur Titergrenze; auf die Cholera-

Tabelle No. 2.

Agglutinationsversuche mit Kaninichencholeraserum (Titer 1 : 1500).

Grad der Verdünnung des Serums	Vibrio No. 1	Vibrio No. 1a	Vibrio No. 2	Vibrio No. 3	Vibrio No. 4	Vibrio cholerae asiaticae aus den Darmentleerungen eines Cholerakranken	Vibrio cholerae asiaticae aus Nevawasser
1:2	—	—	—	—	—	++	++
1:10	—	—	—	—	—	++	++
1:50	—	—	—	—	—	++	++
1:100	—	—	—	—	—	++	++
1:200	—	—	—	—	—	++	++
1:500	—	—	—	—	—	++	++
1:1000	—	—	—	—	—	++	++
1:1500	—	—	—	—	—	++	++

Bedeutung der Zeichen s. Tabelle No. 1.

Tabelle No. 3.

Agglutinationsversuche mit agglutinierendem Choleraserum vom Pestlaboratorium auf dem Fort Alexander I (Titer 1 : 6000).

Grad der Verdünnung des Serums	Vibrio No. 1	Vibrio No. 1a	Vibrio No. 2	Vibrio No. 3	Vibrio No. 4	Vibrio cholerae asiaticae aus den Darmentleerungen eines Cholerakranken	Vibrio cholerae asiaticae aus Nevawasser
1:2	—	—	—	—	—	++	++
1:10	—	—	—	—	—	++	++
1:50	—	—	—	—	—	++	++
1:100	—	—	—	—	—	++	++
1:1000	—	—	—	—	—	++	++
1:2000	—	—	—	—	—	++	++
1:4000	—	—	—	—	—	++	++
1:6000	—	—	—	—	—	++	++

Bedeutung der Zeichen s. Tabelle No. 1.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 14:49 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

vibrionen übten sie sogar bei einer Verdünnung von 1 : 2 keine Wirkung aus.

Mit den Cholera agglutinierenden Seren, wie sie von mir zubereitet wurden, sowie auch mit dem aus dem Pestlaboratorium des Forts Alexander I. erhaltenen sind folgende Resultate erzielt worden (siehe Tabelle No. 2 und 3).

Folglich agglutinierten die beiden agglutinierenden Choleraseren die Vibrionen No. 1, 1a, 2, 3 u. 4 sogar bei einer Verdünnung von 1 : 2 nicht, während dieselben Seren die Choleravibrionen bis zu ihrer Titergrenze agglutinierten.

Die Agglutinationsreaktion wurde bei $+37^{0}$ und $+55^{0}$ C ausgeführt. Die Probiergläser standen 24 Stunden im Thermostat. In allen Fällen übrigens, wo die Reaktion ein positives Resultat gab, wurde sie bei 37^{0} C nicht später als $1^{1}/_{2}$ Stunde, und bei 55^{0} C $^{1}/_{2}$ Stunde nach dem Beginne des Versuches beobachtet. Kontrollprüfungen (Vibriosuspensionen in physiologischer Kochsalzlösung und in Normalseren der Kaninchen und Pferde, die mit physiologischer Kochsalzlösung 10-fach verdünnt worden waren) wurden selbstverständlich immer gemacht. Alle Agglutinationsversuche wurden nach der makroskopischen Methode ausgeführt.

Die Komplementablenkungsversuche wurden mit den 5 oben erwähnten Kaninchenseren und außerdem mit den 5 Krankenseren (4 Scharlach- und 1 Diphtheritiskranken) ausgeführt.

Das Serum (das Blut) wurde von folgenden Scharlachkranken genommen: 1) von der Kranken, von welcher die Vibrionen No. 1 u. 1a gezüchtet waren, am 32. Tage der Krankheit; 2) von dem Durchfallkranken, von dem der Vibrio No. 2 am 15. Tage der Krankheit gezüchtet worden war; 3) von dem Kranken mit normalen Darmentleerungen, aus denen der Vibrio No. 3 erhalten wurde, am 20. Tage der Krankheit; 4) von einem Scharlachfalle mittlerer Schwere, jedoch ohne jegliche Komplikationen, am 22. Tage der Krankheit.

Mit allen erwähnten 10 Seren wurden Versuche mit der Komplementablenkungsreaktion ausgeführt. Für den einen Teil der Experimente wurde das Antigen als Suspension einer täglichen Agarkultur der Vibrionen, die durch Erwärmen während $1^{1}/_{2}$ Stunde auf 60^{0} C abgetötet wurden, bereitet. Zum Abwaschen der Kultur wurden 10 ccm einer 0,85-proz. Lösung von Chlornatrium genommen. Für den anderen Teil der Experimente wurde das Antigen nach der Methode von Altmann und Schultz (20) mit einer 2-proz. Lösung von Antiformin zubereitet. Auf eine 24-stündige Schrägagarkultur wurden 10 ccm der bezeichneten Lösung genommen. Einmal wurden die nach beiden Methoden zubereiteten Antigene gleichzeitig in 2 Parallelreihen gebraucht.

Bei den Komplementablenkungsversuchen wurden jedesmal 1 von den 10 Seren und 6 Antigene genommen (die Vibrionen No. 1, 1a, 2, 3 u. 4 und 1 ausgesprochener Choleravibrio). Beide Antigene arbeiteten gut; sie fesselten von selbst das Komplement nur bei einer Quantität von 1 ccm. Beide Antigene in der Menge von 0,001 und 0,0005 konnten nicht den ganzen Antikörper (selbstredend für sie spezifischen), der sich in den Seren fand, binden. Infolgedessen blieb ein Teil des Komplements frei, und es erfolgte eine teilweise Hämolyse.

Die Protokolle aller Komplementablenkungsversuche will ich nicht vorführen, um Wiederholungen zu vermeiden und verweise auf das Schema (s. Tabelle 4), nach welchem die Versuche ausgeführt wurden.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 14:49 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle No. 4.
Schema.

Antigen	Gegenkörper	Komplement	Hämolysin (Titer: 1:500)	5-proz. Schaferythrocytenaufschwemmung in physiologischer NaCl-Lösung
0,1 0,05 0,01 0,005 0,001 0,0005	0,1	0,05—0,07	0,002	1 ccm
1,0 0,5 0,25	— — —	idem	idem	idem
—	0,1	idem	idem	idem
1,0	—	—	—	idem
—	0,1	—	idem	idem
—	—	idem	idem	idem
—	—	idem	—	idem
—	—	—	—	idem + 4 ccm der physiologischen NaCl-Lösung

Aus den Komplementablenkungsversuchen ging hervor, daß 1) sich bei den mit den Vibrionen No. 1, 2, 3 u. 4 immunisierten Kaninchen für die 4 beschriebenen Vibrionen und den Vibrio No. 1a Antikörper bildeten; dagegen konnten Antikörper für den Choleravibrio nicht gefunden werden; 2) im Serum des Kaninchens, dem man Kulturen des Choleravibrios in die Vene einführte, wurden umgekehrt Antikörper nur für den Choleravibrio, aber nicht für den beschriebenen choleraähnlichen vorgefunden; 3) in den untersuchten Seren der 4 Scharlach- und des 1 Diphtheriekranken fanden sich keine Antikörper für die choleraähnlichen Vibrionen, noch auch für den Choleravibrio.

Man kann also nicht die beschriebenen choleraähnlichen Vibrionen auf Grund des Fehlens der Antikörper im Blute der Kranken (Agglutinine und Ambozeptoren, die eine Komplementablenkung hervorrufen) als Ursache des Durchfalls betrachten. Aus den Resultaten der Versuche mit der Reaktion, sowie mit der Agglutinationreaktion geht deutlich hervor, daß es mir bei 4 meiner Kranken gelungen ist, einen und denselben choleraähnlichen Vibrio zu züchten.

Hier ist noch zu bemerken, daß es bis jetzt noch nicht gelungen ist, Antikörper für choleraähnliche Vibrionen im Blute von Menschen, in deren Ausleerungen choleraähnliche Vibrionen in fast reiner Kultur sich befanden (L. Kandyba u. a.), zu finden. Infolgedessen bleibt auch die Frage der Bedeutung der choleraähnlichen Vibrionen in der Pathologie des Menschen eine noch offene.

Aus meiner kleinen Untersuchung kann ich folgende Schlüsse ziehen:

Generated on 2019-09-15 14:49 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

1) Die von mir gezüchteten 4 Kulturen von choleraähnlichen Vibrionen sind identisch.

2) Die Bedeutung der choleraähnlichen Vibrionen in der Pathologie des Menschen ist noch immer nicht bekannt.

3) In den Darmausleerungen gesunder Menschen kann man bakterioskopisch sehr oft die Anwesenheit (choleraähnlicher) Vibrionen, allerdings in äußerst geringer Menge, feststellen.

4) Choleraähnliche Vibrionen können jetzt vom Menschen in allen Breiten des Erdballs, auch außer der Zeit von Choleraepidemieen, gezüchtet werden.

5) Die Behauptung von W. Kolle, W. Kolle und W. Schürmann, daß man bakterioskopisch nur in Präparaten von Choleraausleerungen das Vorherrschen der Vibrionen über alle anderen Bakterienarten beobachten kann, ist nicht ganz zutreffend (z. B. mein Fall, der Fall von L. Kandyba).

6) Man ist daher gezwungen, die bestimmte Forderung zu stellen, sich bei der Choleradiagnose während einer Choleraepidemie nicht mit der bakterioskopischen Analyse der Ausleerungen und der Züchtung der Vibrionen zu begnügen, sondern unbedingt auch die Agglutinationsreaktion mit dem choleraagglutinierenden Serum und den gezüchteten Vibrionen vorzunehmen.

Literatur.

1) Dunbar, Dtsche med. Wochenschr. 1893 u. Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamte. Bd. 9.
2) Kutscher, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 19. 1895.
3) Kolle, W., in Kolle und Wassermanns Handb. d. pathog. Mikroorgan. 1. Aufl. Bd. 3. p. 1.
4) Finkler u. Prior, Zit. nach W. Kolle.
5) Pasquale, Zit. nach W. Kolle.
6) Gotschlich, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 53. 1906.
7) —, Hetsch, Kolle, Lentz u. Otto, ibid. Bd. 44. 1903. p. 1.
8) Berestnew, N. M., Russky Wratsch. 1905.
9) Margulies, M. N., Russky Wrasch. 1909. No. 52.
10) Zabolotny, D. K., Zlatogorow, S. J., Kulescha, G. S. u. Jakowlew, W. J., Russky Wratsch. 1910. No. 47.
11) Rothe u. Meinicke, Dtsche med. Wochenschr. 1909. p. 1559.
12) Baerthlein, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 67. p. 321.
13) Sparmberg, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 70. p. 441.
14) Kandyba, L., Charkowski med. Journ. Bd. 11. 1911. p. 177 u. Zeitschr. f. Hyg. Bd. 69. p. 405.
15) Bernhard, T., Zeitschr. f. Hyg. Bd. 71. p. 495.
16) Craster, Ref. nach Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 58. p. 586.
17) Bürgers, Hyg. Rundsch. Bd. 21. 1911. p. 263.
18) Zlatogorow, S. J., Wratschebnaja Gaz. 1908. No. 43; Russky Wratsch. 1908. No. 24 u. Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 52. 1909.
19) Kolle, W. u. Schürmann, W., in W. Kolle u. A. Wassermanns Handb. d. pathog. Mikroorgan. 2. Aufl. Bd. 4. p. 103.
20) Altmann u. Schultz, Zeitschr. f. Immunitätsf. Bd. 3. 1909. p. 98.

Generated on 2019-09-15 14:49 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Nachdruck verboten.

Kasuistischer Beitrag zur Rattenpest.

[Aus dem staatl. Laboratorium für med. Diagnostik in Triest.]

Von Regierungsrat Dr. **Markl.**

Ich habe in einem früheren Artikel[1]) über die bakteriologische Diagnose der Rattenpest ausführlich berichtet und auf die Schwierigkeiten hingewiesen, welchen die rasche Diagnosestellung bei faulen Rattenkadavern begegnet. Insbesondere habe ich hervorgehoben, daß bei Anwesenheit des B. proteus der kulturelle Nachweis der Pestbacillen nicht gelingt, weil der Proteus den ganzen Nährboden rasch schleierartig überwuchert und die Entwickelung der Pestkolonieen nicht zuläßt.

Der Fall, über den ich heute ganz kurz berichten will, ist dadurch interessant, daß er unter Bestätigung meiner früheren Angabe die Möglichkeit eines raschen kulturellen Nachweises der Pestbacillen aus Kadavern selbst bei Proteus-Fäulnis demonstriert, wenn diese noch nicht so weit vorgeschritten ist, daß der Proteus auch das Innere des Herzens ergriffen hat.

Am 5. Nov. v. J. früh starb plötzlich nach kurzdauerndem Unwohlsein, welches sich in Fieber und Schmerzhaftigkeit in der rechten Leistengrube äußerte, der 33 Jahre alte Capo d'Armi Jos. Vlastenič an Bord des im hiesigen Hafen liegenden Dampfers „Sofia Hohenberg".

Die Obduktion der Leiche, die ich nachmittags desselben Tages vornahm, ergab: Taubeneigroßer, hämorrhagisch infiltrierter Bubo in der rechten Leistengegend ohne Veränderung der Hautdecken. Injektion und stellenweise hämorrhagische Infiltration der Darmserosa, akuter Milztumor, fettige Degeneration der Leber, parenchymatöse Degeneration der Nieren, Hypostase in der rechten Lunge.

Der Bubonensaft enthält mikroskopisch zahlreiche Pestbacillen. Kulturell sind nach 24 Stunden aus dem Bubonensaft, Milzausstrich und Blut zarte, winzig kleine Pestkolonieen aufgegangen.

Der Dampfer „Sofia Hohenberg" ist, hauptsächlich mit Kaffee und Quebracho beladen, am 12. Okt. v. J. von Buenos Ayres über Rio de Janeiro und Las Palmas mit gutem Gesundheitszustande an Bord in Triest angekommen und erhielt die pratica. Nach Ausschiffung der Ladung lag der Dampfer behufs Reparaturen abseits im Hafen und hatte 185 Personen, darunter über die Hälfte Arbeiter, die mit den Reparaturen beschäftigt waren, an Bord.

Recherchen über die Ratten ergaben, daß während der Ueberfahrt viele lebende Ratten gesehen wurden. 5 oder 6 Tage nach Ankunft in Triest sollen auch taumelnde Ratten gesehen und tote Ratten gefunden worden sein; das letzte Mal wurden in der Nähe der Küche am 4. Nov. eine und am 5. Nov. zwei tote Ratten gefunden und über Bord geworfen.

Der Verstorbene war in der Stiva passeggeri (Corridoio) beschäftigt und soll am 2. Nov. eine lebende Ratte gefangen haben, die er, in einer Eisenzange haltend, auf offenem Feuer verbrannte. Am 6. Nov. abends und am 7. Nov. früh wurde in der Küche je eine tote Ratte gefunden und am 7. Nov. mittags in mein Laboratorium gebracht.

Der eine Rattenkadaver schien noch ziemlich frisch zu sein; das Unterhautzellgewebe war injiziert, die Milz stark vergrößert, im Blute und in der Milz waren mikroskopisch massenhaft bipolar sich färbende Bacillen nachweisbar, die auf Grund ihres polymorphen Aussehens mit voller Sicherheit als Pestbacillen diagnostiziert werden konnten.

1) Dieses Centralbl. Abt. I. Orig. Bd. 67.

Digitized by Google

Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-15 14:49 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Die andere Ratte war stark in Fäulnis begriffen; die Eingeweide waren angenagt. Im Blute und in Milzausstrichen waren zahlreiche Haut-goût-Bacillen und daneben in Minderzahl plumpe Stäbchen nachweisbar, welche mit großer Wahrscheinlichkeit als Pestbacillen gedeutet werden konnten.

Aus dem Herzblute von der ersten Ratte gingen auf Agarplatten nach 24 Stunden Pestkolonieen als zarte, kleinste Punkte fast in Reinkultur auf, während die aus Milzausstrichen angelegten Platten schon nach 24 Stunden ein reichliches Wachstum von bunter Bakterienflora zeigten.

Da ich den positiven Erfolg des direkten Kulturverfahrens nicht voraussetzen konnte, habe ich, um den kulturellen Nachweis der Pestbacillen zu führen, noch Tierversuche angeschlossen.

Das Herz der ersten Ratte, worin Pestbacillen mikroskopisch nachgewiesen wurden, enthielt nur wenige Blutkoagula, und war es nicht möglich, das zu Tierversuchen nötige Impfmaterial mittels einer Pipette zu gewinnen. Ich faßte daher das Herz mit einer sterilen Pinzette und spülte es mit physiologischer Kochsalzlösung durch. Mit der Spülflüssigkeit wurde je ein Meerschweinchen peritoneal und subkutan geimpft. Beide Tiere gingen nach 24 Stunden ein. Das erstere zeigte bei der Obduktion eine beginnende eiterige Peritonitis mit zahlreichen kurzen und spärlichen längeren Bacillen im Exsudat, das andere nur eine Injektion der inguinalen Lymphdrüsen, ohne mikroskopischen Bacillenbefund. Auf Platten gingen aus dem Peritonealexsudat einige fremde Kolonieen auf, und die ganze Platte war mit einem Proteus-Schleier überzogen. Aus dem Herzblute von beiden Meerschweinchen sind neben fremden Kolonieen auch einige Pestkolonieen aufgegangen. Die Tiere starben also nicht an Pest, sondern an putrider Infektion, es ist aber doch gelungen, aus dem Herzblute die Pestbacillen reinzuzüchten. Es unterliegt keinem Zweifel, daß der Proteus von der Oberfläche des Herzens in die Spülflüssigkeit gelangte und den normalen Verlauf des Versuches störte. Diese Eventualität habe ich vorausgesehen und vorsichtshalber noch einem dritten Meerschweinchen auf die rasierte Bauchhaut die Milzpulpa von der ersten Ratte ausgestrichen. Das Tier wurde 7 Tage nach der Impfung, nachdem es schwer krank war und palpable Inguinalbubonen zeigte, durch Chloroform getötet und zeigte bei der Obduktion ein typisches Pestbild: Bubonen und miliare Pestnekrosen in der Leber und stark geschwollener Milz.

Der Vollständigkeit halber sei noch erwähnt, daß das Schiff dreimal nacheinander mit Schwefel intensiv ausgeräuchert wurde. Nach der ersten Räucherung wurden 151, nach der zweiten und dritten Räucherung noch weitere 99 tote Ratten gefunden. Die letzteren haben sich offenbar während der ersten Räucherung auf Deck oder in den Maschinenräumen aufgehalten und flüchteten sich erst nachher in die Laderäume des Schiffes; ein Beweis mehr dafür, wie vorteilhaft es ist, die Rattenvertilgung aus Anlaß der Rattenpest mit einer Methode vorzunehmen, welche es gestattet, alle Schiffsräume gleichzeitig unter eine irrespirable Atmosphäre zu setzen.

Generated on 2019-09-15 14:49 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Nachdruck verboten.

Neuartige Parasitenbefunde bei der Jerichobeule.

[Aus dem internationalen Gesundheitsamt in Jerusalem und der Protozoenabteilung des Königlichen Instituts für Infektionskrankheiten „Robert Koch", Berlin.]

Von Dr. **Huntemüller.**

Mit 3 Tafeln und 1 Textfigur.

Nachdem Wright bei der Aleppobeule und fast gleichzeitig mit ihm Marzinowsky bei der Sartenbeule Leishmanien als die Erreger beschrieben hatte, haben sich diese Befunde in der Folgezeit sehr gemehrt. Wir verfügen in der Literatur über eine große Menge gleicher Beobachtungen bei der Bagdad-, Dehli-, Nil-, Biskra-Beule und dem Yemen-, Sahara- etc. Geschwüre, die man unter dem Namen „Orientbeule" zusammengefaßt hat.

Die Fälle sind aber nicht auf den näheren und ferneren Orient beschränkt geblieben, sondern aus allen tropischen und subtropischen Gegenden kommen neuerdings Berichte über gleichartige Befunde bei ähnlichen Krankheiten, so besonders aus Brasilien, Niederländisch- und Französisch-Guayana, den Philippinen, Neukaledonien und den Ländern um das Mittelmeer. Man hat daher den Begriff noch erweitern müssen und faßt jetzt alle diese Erkrankungen unter dem Namen „einer endemischen Beulenkrankheit der warmen Länder" zusammen.

Während meines Aufenthalts in Jerusalem hatte ich dank dem Entgegenkommen der Herren Drs. Mastermann und Canaan Gelegenheit, zwei Fälle von Jerichobeule zu untersuchen und erhielt kürzlich noch Material von einem dritten Fall von Dr. Mastermann zugesandt.

Die Jerichobeule (arabisch „habbît arîha", d. i. Jericho Korn.) wurde bisher mit der Orientbeule identifiziert, und ich erwartete daher, auch in meinem Material die bei diesen beschriebene Leishmania tropica zu finden. Doch unterscheiden sich die gefundenen Parasiten, wie ich gleich hier vorwegnehmen möchte, deutlich von den bekannten Leishmanien-Formen.

Das klinische Bild der Jerichobeule ist, soweit ich es insbesondere von den obigen Herren erfahren habe, dem der Orientbeule sehr ähnlich.

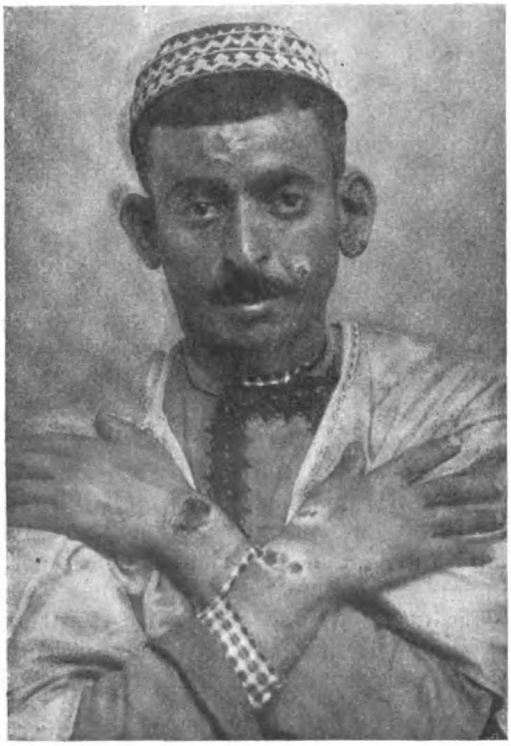
Es bildet sich an unbedeckten Körperstellen an Bein, Hand oder Gesicht eine kleine, gerötete Stelle. ähnlich einer Aknepustel. In der Mitte entsteht ein kleines Bläschen, dessen Inhalt bald vereitert. Es resultiert ein kleines, eiterndes Geschwür, das im Laufe von Wochen und Monaten größer wird, aber nicht die Größe eines Pfennigstückes übertrifft. Die benachbarten Hautstellen wölben sich mit der Zeit vor und nehmen ein glattes, livide gefärbtes oder aber auch ein runzliges, warzenartiges Aussehen an. Die Beulenbildung kann auch ohne Geschwürsbildung vor sich gehen. Sie erreicht etwa die Größe einer Walnußhälfte und hat im Aussehen oft auch Aehnlichkeit mit einer solchen.

Die Beulen können, wie bei der Orientbeule, in einzelnen Exemplaren oder auch wie in einem der von mir untersuchten Fälle in großer Zahl an den Streckseiten der Unter- und Oberschenkel, sowie der Vorderarme und im Gesicht (Arcus zygomaticus) gefunden werden.

Generated on 2019-09-15 14:49 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Die Beulen sind nicht schmerzhaft, doch lösen sie einen ziemlich starken Juckreiz aus, und hierauf ist vielleicht das gehäufte Auftreten derselben zurückzuführen, indem das Virus durch den kratzenden Finger anderen Körperstellen inokuliert wird.

Wie die natürliche Infektion vor sich geht, und ob Insekten, Fliegen etc. für die Uebertragung in Betracht kommen, ist bisher nicht bekannt. Dagegen steht es fest, daß die Krankheit nur in Jericho und der nächsten Umgebung akqueriert wird. Es genügt hierzu schon ein Aufenthalt von wenigen Stunden. Die Jahreszeit soll hierbei auch eine Rolle spielen. Als ich Anfang Juli dieses Jahres gemeinsam mit Dr. Mastermann Jericho besuchte, konnten wir dort keinen Fall auffinden, erfuhren aber, daß die frischen Fälle etwa 1 Monat nach Beendigung der Ernte, die noch im Gange war, aufzutreten pflegten.



Araber mit Jerichobeulen (nach einer Photographie von Dr. Mastermann).

Die Frage, ob das erneute Auftreten der Beule mit dem zur Erntezeit erfolgenden Herbeiströmen nicht-immuner Saisonarbeiter oder mit irgendeinem hauptsächlich zu dieser Zeit existierenden Zwischenwirt zusammenhängt, muß noch näher untersucht werden. Epidemiologisch interessant ist die Bemerkung von Flu, daß in Niederländisch-Guayana die Boschyaws, einer der Aleppobeule analoge Erkrankung, zu Anfang der Regenzeit auftreten. In Jericho treten die Beulen dagegen meist während der trockenen Jahreszeit auf, denn von Mai bis November fällt hier kein Tropfen Regen. Vielleicht hängt dies aber mit der verschiedenen Inkubationszeit zusammen, die bei der Jerichobeule $^1/_2$—2 Monate, bei der Orientbeule aber 4 Monate und länger betragen kann. Doch kommen auch zu anderer Zeit Infektionen vor. So hat sich unser zweiter Fall während eines 12-tägigen Aufenthalts in Jericho in der Weihnachtszeit infiziert.

Die Krankheitsdauer beträgt bis zu 6 Monaten. Die Beulen heilen ohne irgendwelche Therapie mit geringer Narbenbildung ab. Für die von der Leishmania tropica hervorgerufene endemische Beulenkrankheit wird eine Dauer bis zu einem Jahr und länger angegeben. Doch scheint diese an den einzelnen endemischen Herden auch verschieden zu sein. So gibt Marzinowsky für die Sartenbeule im Durchschnitt ein Jahr an, während Flu den Verlauf der Boschyaws in Surinam als

Generated on 2019-09-15 14:49 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

äußerst chronisch schildert; jahrelang können die Geschwüre unverändert bleiben.

Von der Jerichobeule werden nur frisch Zugezogene oder Durchreisende betroffen. Die Einheimischen haben sie alle überstanden und sind dadurch immun geworden. Ob mehrfache Infektion beobachtet ist, entzieht sich meiner Kenntnis.

Da die Beulen nach einigen Monaten von selbst zur Heilung kommen, so erübrigt sich meist jede Therapie; über den Erfolg der Behandlung mit Salvarsan wird von anderer Seite berichtet werden.

Von den drei mir zur Verfügung stehenden Fällen konnte ich den ersten selbst sehen. Es handelt sich um ein 12-jähriges Judenmädchen, das sich nur kurze Zeit in Jericho aufgehalten hatte. Die Beulen traten dann nach etwa einem Monat auf und bestanden jetzt etwa 5 Monate.

Fall 2 betrifft eine 11-jährige Araberin, bei der die Beule etwa $1^1/_2$ Monate bestanden hatte. Bei Fall 3 war das Alter der Beule angeblich $2^1/_2$ Monate.

Beim ersten Fall ergab die Untersuchung des Sekretes aus einer größeren Beule neben Zellresten nur verschiedene Bakterien, Stäbchen und Kokken. Bei der aseptisch ausgeführten Exzision eines Stückes einer größeren und einer kleineren Beule konnte ich von den sterilen Schnittflächen Abstrichpräparate anfertigen und in Sublimatalkohol feucht fixieren. Doch auch hier fanden sich nur Kokken und nicht die gesuchten Leishmanien.

Das gewonnene Exzisionsmaterial wurde gleichfalls in Sublimatalkohol fixiert und nach Alkoholhärtung in Paraffin resp. Celloidin-Paraffin zum Schneiden eingebettet.

Zur Kultivierung nach Novy-Neal-Nicolle und zur Tierimpfung fehlte mir leider Zeit und Tiermaterial.

Von den beiden anderen Fällen stand mir nur in Sublimatalkohol, resp. Formalin gehärtetes Material zur Verfügung. Bei dem zweiten Fall fanden sich bei Schnitten in großen mononukleären Zellen oft in großer Zahl Parasiten, die man auf den ersten Blick ihrer Lagerung nach für Leishmanien halten konnte, doch sind sie bedeutend kleiner (s. Fig. 9), und es fehlt ihnen die für die Leishmania charakteristische Doppelkernigkeit. Die größeren Formen sind meist rund und haben etwa 0,8 μ Durchmesser, demgegenüber wird für die Leishmanien meist ovale Form und eine Länge von 2—4 μ und eine Breite von 1—2 μ angegeben.

Der kleine, mit Giemsa leuchtend rot gefärbte Kern liegt meist exzentrisch und zeigt oft Stäbchen — oder, indem er sich der Peripherie anschmiegt, Sichelform.

Die Gebilde liegen von einem bis zu einer großen Zahl in Zellen, die ein wabenartiges Aussehen zeigen. In jeder Wabenmasche liegt ein Parasit, von einem hellen Hof umgeben. Mehrere Maschen sind wieder zu Gruppen vereinigt, so daß man den Eindruck einer stattgehabten Schizogonie bekommt (s. Fig. 7 u. 8), doch habe ich nur selten mehr wie zwei Kerne in einer Plasmamasse vereint gesehen. Es findet sich meist nur eine einfache Zweiteilung, und das Plasma teilt sich sehr bald nach erfolgter Kernteilung. Diese Maschenstruktur zeigt sich besonders deutlich bei Giemsa-Färbung; die runden Parasiten treten besonders gut nach Färbung mit Delafields Hämatoxylin hervor. Hierbei färbt

Generated on 2019-09-15 14:49 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

sich neben dem Kern besonders der Rand des Parasiten, und wir erhalten dann die Siegelringform.

Frei im Gewebe finden sich die Parasiten selten und sind dann meist kleiner als die oben beschriebenen Formen. Die Gestalt ist mehr oval, selbst stäbchenförmig, der Kern rund und an einem Pol gelegen (s. Fig. 7). Auch dort, wo sich nur ein oder zwei Parasiten vorfinden, ist diese Gestalt die häufigere.

Ihre Größe ist oft sehr gering, etwa $^1/_2$ der größeren Formen, so daß man auch bei starker Vergrößerung oft den Eindruck hat, als wenn es sich um Kokken handelte.

Ob die Parasiten Eigenbewegung haben, oder ob sie unbeweglich sind und von den Zellen durch Phagocytose aufgenommen werden, läßt sich nicht sicher entscheiden. Jedenfalls scheint die mehr längliche Gestalt der frei im Gewebe liegenden Formen für die erstere Annahme zu sprechen.

In roten Blutkörperchen oder Lenkocyten habe ich die Gebilde nicht nachweisen können. Sie liegen in großen Plasmazellen, die dem Bindegewebe oder dem Endothel der Kapillaren entstammen können.

Nach Gram sind die Parasiten nicht darstellbar. Von den Granula der Mastzellen, mit denen die kleineren Formen verwechselt werden können, sind sie durch die Färbung mit polychromem Methylenblau nach Unna zu unterscheiden; die metachromatischen Granula nehmen hierbei den roten Farbenton an, während sich die Parasiten blau färben.

Ich möchte diesen Parasiten für den Erreger dieser Beulenkrankheit ansprechen und für ihn den Namen **Plasmosoma Jerichoense** in Vorschlag bringen.

Was seine Stellung im System betrifft, so muß die Frage noch offen bleiben, ob er zu den Protozoen oder zu den Pilzen zu rechnen ist. Die Kultur, die ich leider nicht ausführen konnte, wird darüber Aufschluß geben.

Das histologische Bild der Jerichobeule entspricht der Beschreibung, die Marzinowsky, Reinhardt, Flu und andere von der durch die Leishmania tropica hervorgerufenen Erkrankung geben. Nur scheint der Krankheitsprozeß schneller zu verlaufen, so daß es nicht zu größeren Geschwürsbildungen kommt, wie sie besonders Flu beschreibt.

Bei dem mir zur Verfügung stehenden Material von drei Fällen kann man zwei verschiedene Stadien unterscheiden.

Ein Frühstadium (Fig. 1), bei dem die obigen Befunde erhoben wurden, zeigt starke Zellinfiltration im subepithelialen Bindegewebe, besonders entlang den Drüsen und ihren Ausführungsgängen. Die Infiltratzellen sind einkernige Leukocyten und zu Nestern angeordnete große Plasmazellen. Das Epithel zeigt in diesem Stadium noch wenig Veränderung. Nur im Zentrum, wo sich die Pustel gebildet hatte, ist es nekrotisch und von der Unterlage abgehoben. Hier finden sich die Parasitenherde in großer Zahl in den bis ans Epithel vorgedrungenen Makrophagen. Doch auch in der Tiefe des Gewebes lassen sich die Parasiten nachweisen.

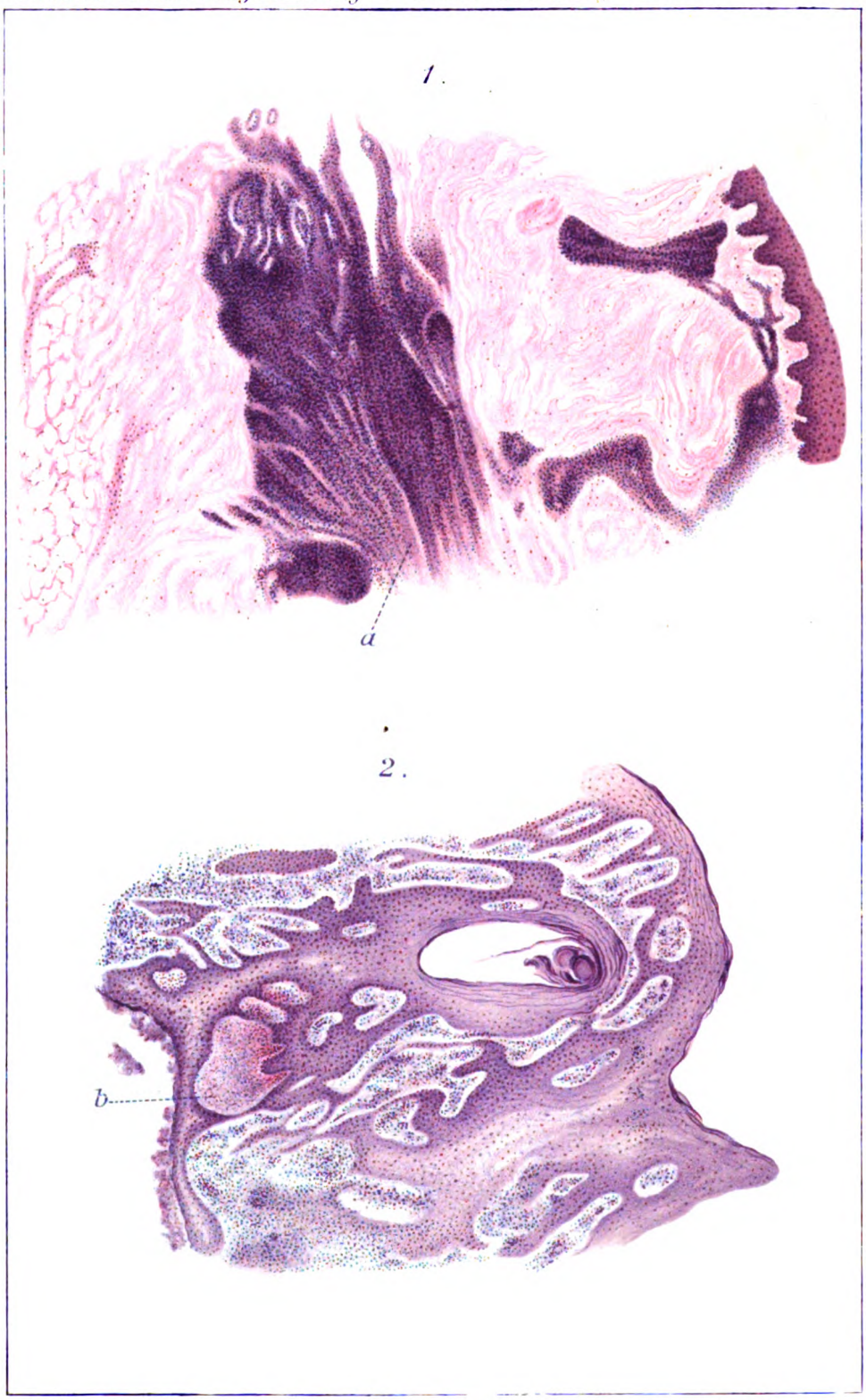
Die beiden anderen Fälle zeigten ein völlig anderes Bild (Fig. 2). Das Epithel der Papillen und Harbälge ist stark gewuchert und hat das in Granulationsgewebe umgewandelte Bindegewebe verdrängt und

Generated on 2019-09-15 14:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-15 14:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Digitized by Google

Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN



Verlag von Gustav Fischer in Jena

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 14:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Generated on 2019-09-15 14:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

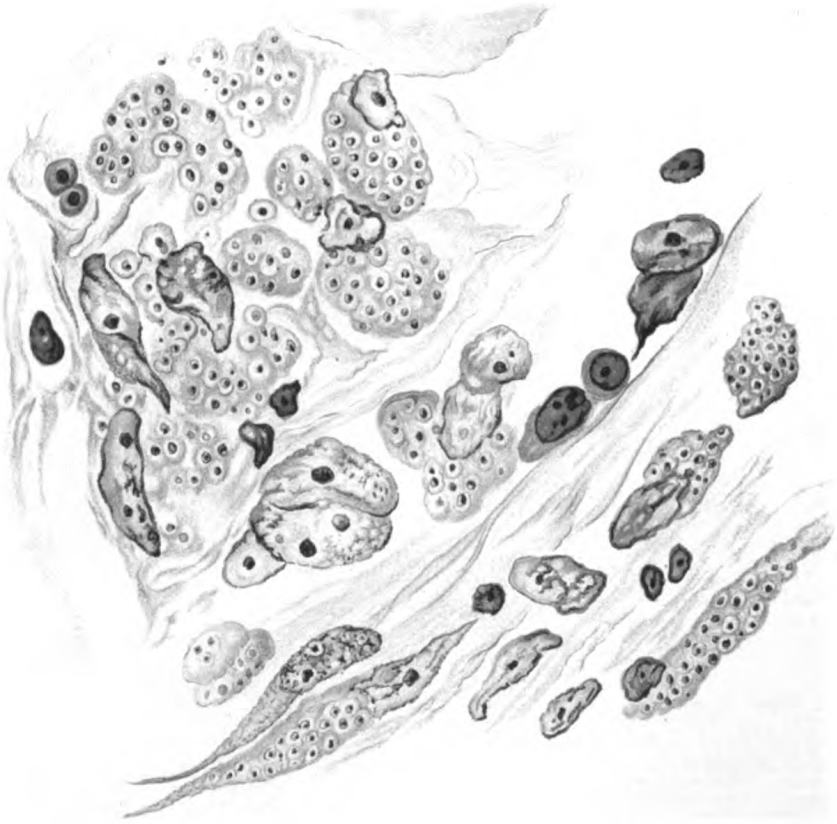
Digitized by Google

Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

3. 4. 5. 6.



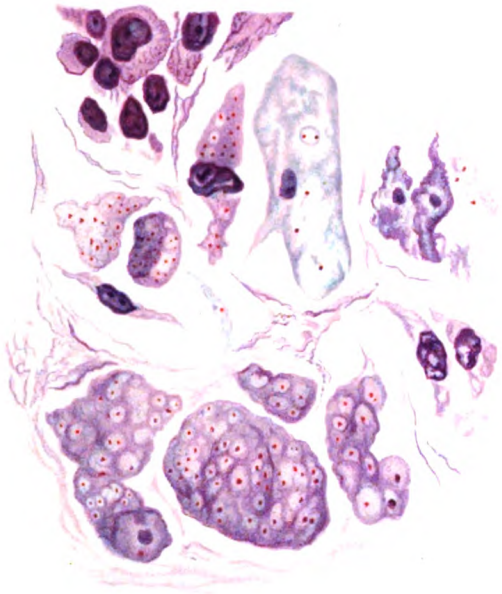
9.



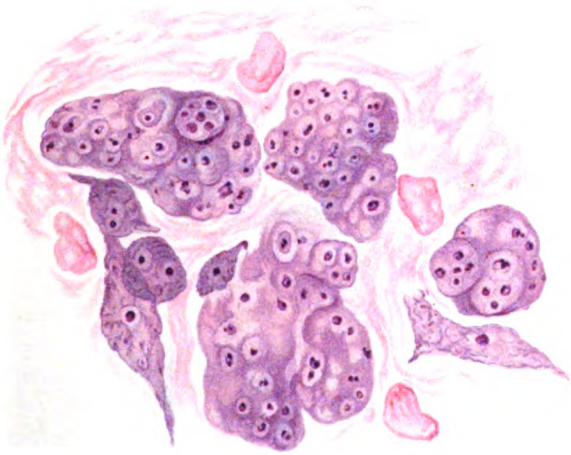
Verlag von Gustav Fischer in Jena Lith. Anst. v. E. A. Funke, Leipzig

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 14:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

7.



8.



Verlag von Gustav Fischer in Jena. Lith. Anst. v. E. Ahnke, Leipzig.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 14:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Generated on 2019-09-15 14:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Digitized by Google

Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

durchwachsen, und wir erhalten so den Eindruck eines papillären Epithelioms.

Die Parasitenherde sind durch Zerfall der Zellen und ausgedehnte Blutaustritte in flüssige, nekrotische Massen verwandelt, die vom Epithel umwuchert sind. Gut erhaltene, in Zellen liegende Parasiten, wie sie oben beschrieben wurden, lassen sich darin nicht auffinden, und einige freiliegende Gebilde sind nicht mit Sicherheit als solche zu identifizieren. Ebensowenig finden sich aber Formen, die als Leishmanien angesprochen werden können.

Eine kleine erbsengroße Beule vom gleichen Falle zeigt dasselbe histologische Bild; auch hier lassen sich keine sicheren Parasitenbefunde erheben.

Zusammenfassung.

Bei der Jerichobeule wurden Parasiten gefunden, die nicht mit der bei der endemischen Beulenkrankheit bisher stets gefundenen Leishmania zu identifizieren sind.

Literatur.

1) Wright, J. H., Journ. of med. Res. 1903 p. 872.
2) Marzinowsky u. Bogroff, Virchows Arch. f. pathol. Anat. Bd. 178. 1904.
3) Marzinowsky, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 58. 1908.
4) Reinhardt, ebenda. Bd. 62. 1909.
5) — Dtsche med. Wochenschr. 1911. No. 39.
6) Flu, P. C., Centralbl. f. Bakt. Abt. 1. Orig. Bd. 60. 1911. p. 624.
7) Mayer, Martin, in Kolle-Wassermann, Handbuch der pathogenen Mikroorganismen. Bd. 7. 1912 (hier auch weitere Literatur).
8) Mastermann, E. W. G., The Journ. of Hyg. Vol. 13. No. 4.

Tafelerklärung.

Fig. 1. Schnitt durch eine frische Beule. Bei *a* Parasitenherde.
Fig. 2. Schnitt durch eine ältere, in Heilung begriffene Beule. Bei *b* Detritusmassen.
Fig. 3—6. Teilungsformen des Parasiten. Färbung nach Giemsa.
Fig. 7. Parasiten, hauptsächlich innerhalb der Plasmazellen. Kleinere Formen. Färbung nach Giemsa. Zeiss. Immers. 2 mm. Ok. 8. Vergr. 1300.
Fig. 8. Wabenstruktur der Zellen, Parasiten größer, meist rund. Färbung nach Giemsa. Zeiss. Immers. 2 mm. Ok. 8.
Fig. 9. Parasitenherd, Siegelringform. Färbung mit Delafields Hämatoxylin. Zeiss. Immers. 2 mm. Ok. 8.

Generated on 2019-09-15 14:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Nachdruck verboten.

Smithia talpae n. sp. (Piroplasmidae) chez Talpa europaea L.

[Institut de l'Hygiène et de Parasitologie de l'Université de Lausanne.]

Par **B. Galli-Valerio.**

Avec 1 figure.

Dans les hématies de T. europaea, on a décrit jusqu'à maintenant, deux sortes de corpuscules: Les corpuscules bacilliformes de Graham-Smith[1]) que Brumpt[2]) considère comme des protozoaires, qu'il appelle Grahamella talpae, et les corpuscules décrits par Thomson[3]) que França[4]) appelle Elleipsisoma Thomsoni.

Le 20 déc. 1913, j'ai reçu de Malleray (Vallée de Tavannes, Jura bernois) à 705 m d'altitude, deux taupes. Examinant des frottis de sang de ces deux animaux, j'ai trouvé chez un, un protozoaire que je crois devoir rattacher au genre Smithia França, dont il constitue une nouvelle espèce: S. talpae.

Ce parasite était rare, peut être aussi par le fait que le sang étant déjà coagulé, il état difficile d'avoir de bonnes préparations. Il se colorait fort mal soit par le Leishman, soit par l'azur de Bram, même laissé agir pendant 24 heures. Toutes les formes étaient contenues dans les hématies, et elles se présentaient sous les deux aspects suivants: 1. Corpuscules en forme de poire très allongée, occupant presque complètement le diamètre du globule rouge. Dans chaque hématie on ne trouvait qu'un seul de ces corpuscules. Ils se coloraient très faiblement en azur, et la chromatine se trouvait placée vers l'extrémité de la partie renflée. Leurs dimensions variaient entre 3—4—4,5 μ de long sur 1—2 μ de large (Fig. 1 *a*). 2. Corpuscules ronds ou ovalaires, situés surtout à la périphérie de l'hématie. Dans chaque hématie il n'y en avait qu'un seul. Ils se coloraient très faiblement en azur et la chromatine se trouvait située vers la périphérie sous forme ou bien d'une granulation unique ou bien de plusieurs granulations disposées en chapelet. Leurs dimensions variaient entre 1,5 et 2 μ (Fig. 1 *b*).

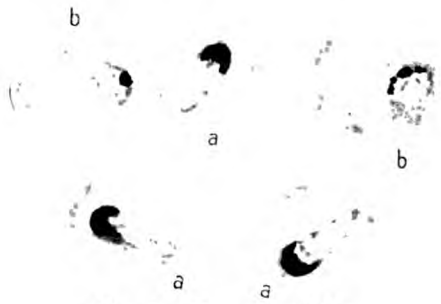


Fig. 1. Gross. 1:2250.

Je n'ai point trouvé de formes de multiplication. Les caractères que je viens d'indiquer me font placer, comme j'ai dit, ce protozoaire dans le genre Smithia França. Les caractères de ce genre sont en effet les suivants[5]): Piroplasmidae présentant à l'une de leurs

1) Journ. of Hyg. Vol. 5. 1908. p. 453.
2) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 51. 1912. p. 690.
3) Journ. of Hyg. Vol. 6. 1906. p. 574.
4) Arch. do Instit. bacter. Camara Pestana. T. 3. 1912. p. 271.
5) Arch. do Real Instit. bacter. Camara Pestana. T. 3. 1910. p. 10.

Generated on 2019-09-15 14:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

phases la forme en poire. La plupart de ces parasites piriformes occupent toute la largeur de l'hématie et ne se disposent pas par paires. Multiplication par division en quatre. La seule espèce décrite par França et S. microtia chez Microtus incertus Sélys.

Bien que je n'aie pas pu observer de formes de multiplication, les formes en poire non disposées par paires et occupant presque tout le diamètre de l'hématie, les formes ovoïdes ou rondes à chromatine périphérique, sous forme d'une granulation ou d'une bande, la difficulté de coloration, rapprochent ce Piroplasmidae de la taupe beaucoup plus de S. microtia que des genres Piroplasma, Theileria, Nicollia et Nuttallia.

Ce parasite n'a en outre rien à faire avec les corpuscules de Graham-Smith, qui sont bacilliformes, ni avec ceux de Thomson, qui sont vermiculaires, élliptiques ou ovales sans formes en poire et avec beaucoup de formes extraglobulaires.

Résumé.

Chez Talpa europaea L. on peut rencontrer un Piroplasmide présentant des caractères qui le rattachent au genre Smithia Franç et pour lequel je propose le nom de **S. talpae n. sp.**

Lausanne, 24 déc. 1913.

Nachdruck verboten.

Einige Virulenzversuche mit Mereshkowskys Hühnereiweissdekokt.

Von **L. Bahr,**
Laboratorienvorstand (Kopenhagen).

Es ist eine Tatsache, daß die Virulenz pathogener Bakterien in hohem Grade schwankt, und daß die Virulenz sich am besten durch fortwährende Passagen durch empfängliche Tiere erhalten läßt; aber auch hierbei kann eine Virulenzabschwächung vorkommen. Die Virulenz der Bakterien läßt sich ausschließlich durch fortgesetzte Kultur der Bakterien auf bisher bekannten künstlichen Nährböden nicht ungeschwächt erhalten, indem sich früher oder später eine Abschwächung einfinden wird, und in den meisten Fällen wird die Virulenz allmählich ganz schwinden. Daher haben Versuche, die die Erhaltung der Virulenz ausschließlich durch Kultur der Bakterien auf künstlichen Nährböden bezwecken, nicht nur ein spezielles, sondern auch ein allgemeines Interesse.

Im Centralblatt für Bakteriologie, Abt. I. Orig. Bd. 65. 1912 teilt Mereshkowsky (St. Petersburg) ein Verfahren mit, bei dem sich ohne Tierpassage die Virulenz des Bacillus Danysz sogar nach zahlreichen Ueberimpfungen auf einen von ihm näher bezeichneten Nährboden unabgeschwächt erhalten sollte.

Der Nährboden wird nach Mereshkowskys Angaben folgendermaßen hergestellt: Hart gekochte, von der Schale befreite Hühnereier

Generated on 2019-09-15 14:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

werden längs in 4 Scheiben geschnitten, aus welchen das Eigelb entfernt wird. Das Eiweiß wird dann mit dem Messer oder einer Haushaltsreibmaschine zerkleinert, abgewogen, in einen Kolben gebracht und mit 100 ccm gewöhnlichen (Trink-)Wassers auf je 10 g Eiweiß übergossen. Im Kolbenhals wird ein Wattebausch angebracht, und der Kolben wird bei einem Druck von 1 Atmosphäre 5 Minuten autoklaviert. Darauf wird das Dekokt filtriert, erst durch Watte, dann durch Filtrierpapier, worauf das Filtrat in Reagenzgläser gefüllt und in gewöhnlicher Weise sterilisiert wird (Autoklave). Das fertige Dekokt muß klar oder leicht opaleszierend, von schwach alkalischer, fast neutraler Reaktion sein.

Nachdem sorgfältig untersucht worden war, ob das fertige Eiweißdekokt durchaus steril war, wurde in diesen Nährboden eine virulente Reinkultur des rattentötenden Bacillus Danysz gesät, die durch Verteilung aus einer aus dem „Laboratoire des vaccins Pasteur" in Paris bezogenen Danysz-Kultur gewonnen war. Die besäten Kulturen blieben nun 24 Stunden bei 38° C im Thermostaten, worauf sie in steriles Eiweißdekokt umgesät, wieder 24 Stunden bei 38° C stehen blieben; darauf Umsaat usw. Es wurde entweder täglich oder mit 2—3-tägigen Zwischenräumen umgesät. Im letzteren Falle standen die besäten Gläser in einem trockenen, kalten Raume und erst die letzten 24 Stunden im Thermostaten bei 38° C. Um Mißerfolgen, Unreinheit bei der Umsaat etc., vorzubeugen, wurden mehrere Gläser besät; die nicht zur Umsaat benutzten Gläser wurden als Reserve im Eisschrank aufbewahrt. Mereshkowsky stellte mit 2 Pariser Kulturen folgende Umsaaten an: Mit Kultur I: 679, mit Kultur II: 443 Umsaaten in Eiweißdekokt, wie oben beschrieben. Von Zeit zu Zeit wurde nun vom Eiweißdekokt in Bouillon umgesät, und nach 24-stündigem Aufenthalt im Thermostaten bei 38° C wurde die gewonnene Kultur, deren Reinheit jedesmal zuvor festgestellt worden war, an Ratten (Mus decumanus) verfüttert, und zwar erhielt jede Ratte 10 ccm Kultur in Weißbrot. Diejenigen Ratten, die starben, wurden bakteriologisch untersucht. In betreff der Einzelheiten verweise ich auf Mereshkowskys Aufsatz.

Wie aus den beiden Schlüssen hervorgeht, die er aus den 65 Versuchen zieht, die er mit im ganzen 265 grauen Ratten angestellt hat, betrug die Sterblichkeit 84 Proz.

Meine Versuche umfassen die beiden rattentötenden Kulturen Ratin (Kopenhagen) und Danysz-Kultur (Paris). Nach genauer Untersuchung der Reinheit[1]) der Kulturen und ihrer Virulenz gegenüber Ratten wurden sie in das genau nach Mereshkowskys Anweisung hergestellte sterile Eiweißdekokt ausgesät. Nach 24-stündigem Aufenthalt im Thermostaten (30° C) wurde in neues Eiweißdekokt umgesät und nach 24 Stunden wiederum in neues Eiweißdekokt usw. Meist fand die Umsaat täglich statt, mitunter aber mit 2—3-tägigen Zwischenräumen; mittlerweile standen die besäten Gläser im Eisschrank und wurden erst 24 Stunden vor neuer Aussaat in den Thermostaten gebracht. Nach weniger oder mehr Generationen wurde in Bouillon umgesät, und nach-

1) Es wurden Versuche angestellt betr. das Vermögen der Kulturen, Dextrose, Laktose, Saccharose, Maltose, Arabinose, Xylose, Rhamnose, Dulzit und Adonit, zu spalten; das Verhalten der Milch- und Gelatinekulturen, sowie mikroskopische Untersuchung, Färbung nach Gram und Nachfärbung mit Neutralrot (1 Proz.)

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 14:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

dem ein 24-stündiger Aufenthalt im Thermostaten kräftiges Wachstum ergeben hatte, wurden 6—10 Ratten je mit 15 ccm der Bouillonkultur gefüttert, deren Reinheit durch Gärungsversuche an den obenerwähnten Zuckerarten etc., Verteilung auf Lackmuslaktoseagar, Aussaat auf Gelatine und mikroskopische Untersuchung (Gram—Neutralrot—Methylenblau) festgestellt worden war.

Mit Ratin wurden im ganzen 62 Ratten gefüttert. Davon (Versuch R. I) 12 Ratten mit Bouillonkultur (15 ccm) vor der Aussaat in Eiweißdekokt.

Versuch R. I (Journal-No. 868, 16. Aug. 1912)[1]).

Ratte	1	nach	6	Tagen	RW. Bl. M.	Ratte	7	nach	8	Tagen	RW. Bl. M.	
„	2	„	8	„	RW. Bl. M.	„	8	„	2	„	OW.	
„	3	„	8	„	RW. Bl. M.	„	9	„	10	„	RW. Bl. M.	
„	4	„	8	„	RW. Bl. M.	„	10	„	10	„	RW. Bl. M.	
„	5	„	6	„	RW. M. Bl.	„	11	„	6	„	RW. Bl. M.	
„	6	„	9	„	RW. Bl. M.	„	12	„	8	„	RW. Bl. M.	

Nach 25 Umsaaten in Mereshkowskys Eiweißdekokt wurde die Reinheit wieder in der obenerwähnten Weise untersucht, worauf in Bouillon umgesät wurde. Nach 24-stündigem Aufenthalt im Thermostaten bei 30° C und erzieltem kräftigen Wachstum wurde die Reinheit der Kulturen wieder untersucht, und 10 graubraune Ratten wurden je mit 15 ccm Bouillonkultur in Weißbrot gefüttert.

Versuch R. II (Journal-No. 890, 12. Sept. 1912).

Ratte	1	starb	nach	10	Tagen	RW. Bl. M.	Ratte	6	starb	nach	8 Tagen RW. Bl. M.
„	2	„	„	8	„	RW. Bl. M.	„	7	überlebte		
„	3	„	„	10	„	RW. Bl. M.	„	8	„		
„	4	„	„	9	„	RW. Bl. M.	„	9	„		
„	5	„	„	10	„	RW. Bl. M.	„	10	starb	nach	5 Tagen RW. M. OBl.

Nach 50 Umsaaten in Eiweißdekokt wurde die Reinheit der Kulturen wieder untersucht, und es wurde darauf wieder in Bouillon umgesät, worauf 10 graubraune Ratten je mit 15 ccm in Weißbrot gefüttert wurden.

Versuch R. III (Journal-No. 916, 12. Okt. 1912).

Ratte	1	starb	nach	8	Tagen	RW. Bl. M.	Ratte	6 überlebte
„	2	überlebte					„	7 „
„	3	starb	nach	16	Tagen	RW. M. OBl.	„	8 „
„	4	überlebte					„	9 „
„	5	starb	nach	7	Tagen	RW. Bl. M.	„	10 „

Nach 75 Umsaaten in Eiweißdekokt wurden, nachdem die Reinheit der Kultur festgestellt worden war, in derselben Weise 10 Ratten mit je 15 ccm Bouillonkultur gefüttert.

Versuch R. IV (Journal-No. 948, 5. Nov. 1912).

Ratte	1	starb	nach	9	Tagen	RW. Bl. M.	Ratte	6	überlebte		
„	2	überlebte					„	7	starb	nach	11 Tagen RW. Bl. M.
„	3	„					„	8	überlebte		
„	4	starb	nach	10	Tagen	RW. Bl. M.	„	9	starb	nach	12 Tagen RW. Bl. M.
„	5	überlebte					„	10	überlebte		

1) In diesem Schema und den folgenden Schematen bedeutet RW. Wachstum von Ratinbakterien, Bl. vom Herzblut, M. vom Milzsaft, OW. kein Wachstum der Bakterien weder vom Blut noch von der Milz, OBl. kein Wachstum der Bakterien vom Herzblut, OM. kein Wachstum von der Milz, DW. Wachstum der Bakterien Danysz.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 14:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Nach 115 Umsaaten in Eiweißdekokt wurden, nachdem die Reinheit der Kultur wieder festgestellt worden war, 10 graubraune Ratten je mit 15 ccm Bouillonkultur gefüttert.

Versuch R. V (Journal-No. 987, 17. Dez. 1912).

Ratte 1 starb nach 11 Tagen RW. Bl. M.	Ratte 6 überlebte
„ 2 überlebte	„ 7 „
„ 3 „	„ 8 „
„ 4 „	„ 9 starb nach 4 Tagen RW. Bl. M.
„ 5 „	„ 10 überlebte

Nachdem 226 Umsaaten auf dem Eweißdekokt stattgefunden hatten, wurden (nachdem die Reinheit der Kultur wie früher festgestellt worden war) 10 graubraune Ratten je mit 15 ccm Bouillonkultur gefüttert.

Versuch R. VI (Journal-No. 1069, 14. April. 1913).

Ratte 1 überlebte	Ratte 6 überlebte
„ 2 „	„ 7 starb nach 9 Tagen R.W. Bl. M.
„ 3 „	„ 8 „ „ 19 „ OW.
„ 4 „	„ 9 „ „ 1 Tage OW.
„ 5 starb nach 13 Tagen RW. Bl. M.	„ 10 „ „ 3 Tagen RW. M. OBl.

Betrachten wir nur die Ratten, die an der Ratinkrankheit verendeten (d. h. in deren Blut und Milz sich bei der bakteriologischen Untersuchung Ratinbakterien nachweisen ließen — und nur von solchen Fällen kann ja die Rede sein, da dies der einzige sichere Beweis dafür ist, daß der Tod von diesen Bakterien herrührt), so erhellt aus Obenstehendem:

Frische Ratinkultur (vor der Aussaat in das Eiweißdekokt) ergab einen Sterblichkeitsprozentsatz	von ca. 92
Dies. Ratinkultur nach 25 Generationen in Eiweißdekokt	„ „ 70
„ „ „ 50 „ „ „	„ „ 30
„ „ „ 75 „ „ „	„ „ 40
„ „ „ 115 „ „ „	„ „ 20
„ „ „ 226 „ „ „	„ „ 30

Außer diesen Versuchen habe ich, wie oben erwähnt, eine ähnliche Reihe von Versuchen angestellt mit einer aus Paris bezogenen originalen B. Danysz-Kultur. Diese, eine Bouillonkultur in zugeschmelzter Glasröhre aus dem Institut Pasteur in Paris (der Angabe nach den für das Departement Haute Marne bestimmten Danysz-Kulturen entnommen), war 10 Tage alt und mit einer Proteus-Form verunreinigt. Durch Verteilung entfernte ich die Proteus-Form und fütterte nun 4 Ratten mit Reinkulturen von B. Danysz; davon starben 2 nach bzw. 12 und 21 Tagen, und aus dem Blut derselben ließen sich auf Agar Reinkulturen von ovalen Bakterien gewinnen, die sich bei näherer Untersuchung wie der B. Danysz verhielten. Nach einigen Versuchen gelang es, die Virulenz zu steigern, so daß ein von mir gezüchteter Danysz-Stamm bei den folgenden Versuchen 5 von 7 Ratten tötete.

Versuch D. I (Journal-No. 964, 19. Nov. 1912). 7 Ratten wurden je mit 15 ccm Bouillonkultur des Danysz-Bacillenstammes (St. No. 947) in Weißbrot gefüttert.

Ratte 1 starb nach 8 Tagen DW. Bl. M.	Ratte 5 starb nach 10 Tagen DW. M. OBl.
„ 2 „ „ 11 „ DW. Bl. M.	„ 6 „ „ 12 „ DW. M. OBl.
„ 3 überlebte	„ 7 überlebte
„ 4 starb nach 6 Tagen DW. Bl. M.	

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 14:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Derselbe Stamm wurde in Mereshkowskys Eiweißdekokt gesät in derselben Weise wie bei den oben besprochenen Versuchen mit Ratinbakterien, und nach bzw. 25, 50 und 80 Generationen wurde die Reinheit der Kultur untersucht, worauf in sterile Bouillon gesät wurde; mit dieser wurden, nachdem jedesmal die Reinheit derselben festgestellt worden war, Ratten mit je 15 ccm gefüttert. Das Ergebnis war:

Versuch D. II (Journal-No. 1000, 31. Dez. 1912). 6 graubraune Ratten wurden nach der 25. Eiweißdekoktpassage mit Bouillonkultur gefüttert und

Ratte 1 überlebte
„ 2 „
„ 3 starb nach 11 Tagen DW.M.OBl.
Ratte 4 starb nach 13 Tagen DW.Bl.M.
„ 5 „ „ 19 „ DW.M.OBl.
„ 6 überlebte

Versuch D. III (Journal-No. 1047, 7. März 1913). 6 graubraune Ratten wurden nach der 50. Eiweißpassage mit Bouillonkultur gefüttert und

Ratte 1 starb nach 6 Tagen DW.Bl.M.
„ 2 überlebte
„ 3 starb nach 18 Tagen DW.Bl.M.
Ratte 4 überlebte
„ 5 starb nach 12 Tagen DW.Bl.M.
„ 6 überlebte

Versuch D. IV (Journal-No. 1068, 14. April 1913). 6 graubraune Ratten wurden nach der 80. Eiweißdekoktpassage mit Bouillonkultur gefüttert und

Ratte 1 überlebte
„ 2 „
„ 3 starb nach 7 Tagen DW.M.Bl.
Ratte 4 überlebte
„ 5 starb nach 7 Tagen DW.M.Bl.
„ 6 überlebte

Daraus geht also hervor, daß die von mir reingezüchtete Danysz-Bakterienkultur vor der Umsaat in Mereshkowskys Eiweißdekokt eine Mortalität ergab von ca. 85 Proz.
nach 25 Umsaaten in Mereshkowskys Dekokt „ 50 „
„ 50 „ „ „ „ „ 50 „
„ 80 „ „ „ „ „ 33 „

Was die Versuche im übrigen betrifft, ist zu bemerken, daß ich in einzelnen Fällen, namentlich bei der Untersuchung der Milz der verendeten Ratten, außer Ratin- und Danysz-Bakterien, wie Mereshkowsky, andere Bakterien (meist Coli-Bakterien oder Proteus) habe nachweisen können, die wahrscheinlich in dem Agonestadium eingewandert waren.

Die bei den Versuchen angewandten 87 Ratten waren sämtlich wilde graubraune Ratten (Mus decumanus), die 8—14 Tage lang zuvor überwacht gewesen waren, indem sie an einem anderen Orte, als wo die Versuche angestellt wurden, eingesperrt waren. Sie fraßen die Kulturen bereitwillig und bekamen erst andere Nahrung, nachdem das Kulturbrot verzehrt war, was meist nach ca. 12 Stunden der Fall war.

Aus den zusammengefaßten Resultaten dieser Versuche geht hervor, daß das von Mereshkowsky empfohlene Eiweißdekokt die Virulenz keiner der beiden Kulturen ungeschwächt zu bewahren vermochte, und ich kann hinzufügen, daß die von mir vorgenommenen Umsaaten in gewöhnliche, schwach alkalische Laktosebouillon ebenso gute oder vielmehr ebenso schlechte Resultate ergaben, so daß Mereshkowskys Eiweißdekokt, nach meinen Versuchen zu urteilen, in dieser Beziehung

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 14:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

keinerlei Vorteile vor der gewöhnlichen Bouillon besitzt. Daß meine Resultate von denen Mereshkowskys durchaus abweichen, läßt sich vielleicht teilweise dadurch erklären, daß ich zu jedem Versuch 6—10 Ratten verwendete, während Mereshkowsky zu jedem der 65 von ihm im Detail[1]) mitgeteilten Versuche in 63 Fällen nur 4 Ratten, zu einem gar nur 3 Ratten und nur zu einem Versuche 10 Ratten anwendete.

5. Dez. 1913.

Nachdruck verboten.

Eine Nachprüfung des von Conradi angegebenen Oeltupferverfahrens zum Nachweis von Diphtheriebacillen.

[Aus dem Hygienischen Institut der Universität Jena.]

Von **Schulze,**
Medizinalpraktikant am Fürstl. Krankenhaus in Greiz.

Die bakteriologische Diagnostik der Diphtherie ist auch heute noch eine vielumstrittene Frage. Dies geht schon daraus hervor, daß fast in jedem Jahr neue Methoden veröffentlicht werden, welche die Fehlerquellen mehr und mehr ausschalten sollen.

Als bester Boden erwies sich bisher die Löfflersche Serumplatte. Diese fand bald in allen Untersuchungsstellen Eingang und hat sich in der Praxis gut bewährt.

In einer Arbeit, welche in der Münchener med. Wochenschr. 1912. Nr. 30 veröffentlicht wurde, schreiben Conradi und Troch der Löffler-Platte zwei Fehler zu:

1) eine gewisse Unsicherheit des Befundes, die darin besteht, daß zahlreiche andersartige Bakterienkolonieen den Diphtheriekolonieen sehr ähnlich sehen,

2) eine Unterdrückung von sich entwickelnden Diphtheriebacillen durch andere schneller wachsende Bakterien.

Beide Fehler sollten durch einen neuen Nährboden, die sogenannte Tellurplatte, ausgeschaltet werden, der von den genannten Verfassern angegeben worden ist.

Die Herstellung dieses Nährbodens ist nicht sehr leicht. Im hiesigen Institut stellt man ihn folgendermaßen her:

In einem 2 l fassenden Glaskolben werden 10 g Liebigs Fleischextrakt, 5 g Kochsalz und 6 g apfelsaures Calcium hineingegossen. In einem Porzellanmörser werden 20 g Pepton verrieben unter allmählicher Zugabe von kleinen Mengen abgemessenen dest. Wassers. Nachdem das Pepton in dem Wasser gut verrieben ist, so daß keine Klümpchen vorhanden sind, gießt man es in den 2 l-Kolben und füllt so viel Wasser nach, daß die Menge zusammenaddiert mit der zum Anreiben des Peptons verbrauchten 1000 ccm beträgt. Das Gemenge kommt $^1/_2$ Stunde in den Dampftopf bei 100° und wird dann filtriert. Die Bouillon gießt man zweckmäßig in kleine Kölbchen zu etwa 100—200 ccm und sterilisiert

1) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 65. 1912. p. 483—486.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 14:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

sie nochmals, um einen entsprechenden Vorrat in passenden Mengen zu haben. Will man Tellurplatten herstellen, so nimmt man ein 100 ccm-Bouillonkölbchen und löst darin 1 g Traubenzucker; die Lösung füllt man mit Rinder-, oder Hammelserum auf 400 ccm auf und fügt 8 ccm einer 1-proz. Kalium tellurosum-Lösung hinzu. Diese Menge reicht für ungefähr 20 Platten aus. Es ist nicht nötig, stets frisches Serum zu nehmen; man kann auch durch Chloroformzusatz steril gehaltenes Serum verwenden, wenn man anstatt der Glasdeckel nach amerikanischem Muster Tondeckel nimmt. Rinderserumplatten werden häufig gelblich, während Hammelserumplatten ein Elfenbeinweiß zeigen, auf welchem die schwarzen Diphtheriekolonieen am schönsten hervortreten. Anstatt der Conradischen Erstarrungsplatte genügt auch ein Erwärmungskasten mit einem Wassermantel. Es ist wichtig, daß das Wasser langsam auf eine Temperatur von 85° gebracht, aber nicht höher erwärmt wird. Beim einmaligen Sterilisieren hält man das Wasser etwa eine Stunde auf 85°. In den beiden nächsten Tagen genügt es, den Wärmekasten je eine Stunde auf 80° zu halten.

In der schon erwähnten Arbeit gibt Conradi an, daß auf der Tellurplatte nur die Diphtherie kohlschwarze Kolonieen bilde, im Gegensatz zu allen anderen Keimen. Diese Schwarzfärbung soll durch Reduktion des Tellurdioxyds entstehen. Andere Keime, z. B. Heubacillen und viele Kokkenarten bilden als reduzierende Substanz H_2S, infolgedessen sollen die Kolonieen dieser Bakterien im Gegensatz zur Diphtherie braun, hellgelb und hellbraun aussehen. Soorpilze sollen schwarze Kolonieen mit weißem Schleimhof bilden. Die Tellurplatte wird insofern als Elektivnährboden der Diphtherie bezeichnet, als der Zusatz von dem antiseptisch wirkenden Tellur die Entwickelung anderer Keime zurückhalten soll.

Ein Vergleich mit der Löffler-Platte auf Grund von 200 Fällen ergab nach Conradi, daß die positiven Diphtheriebefunde mit Hilfe der Tellurplatte verdoppelt würden.

Dieses Ergebnis veranlaßte Wagner und Klunker, ebenfalls vergleichende Untersuchungen zwischen Löffler- und Tellurplatten anzustellen. Die Ergebnisse der Untersuchungen faßt Wagner in folgenden Sätzen zusammen:

„1) Vergleichende Untersuchung mit Anreicherung, sowohl auf Löffler- wie auf Conradi-Platte ausgestrichen:

Es wurden untersucht 114 Fälle, übereinstimmende Resultate hatten 108 Fälle (darunter 39 positive).

Von den übrigen 6 Fällen waren 4 nur auf Löffler-Serum, 2 dagegen nur auf der Tellurplatte positiv.

2) Direkte Aussaat auf Tellurplatte: 72 Diphtherietupfer wurden sowohl auf eine Löffler- wie eine Tellurplatte ausgestrichen. Von 72 Fällen hatten gleiche Ergebnisse 61 Fälle (darunter 27 positive). Von den übrig bleibenden 9 Fällen ergaben 3 auf Löffler, 6 dagegen auf Tellurserum positiven Befund."

Klunker gelangt durch seine vergleichenden Untersuchungen, die er in Nr. 19 der Münchn. med. Wochenschrift veröffentlichte, zu folgendem Resultat:

Es konnten von 140 diphtherieverdächtigen Proben vermittels der Löfflerschen Serumplatte 34mal = 24,3 Proz., vermittelst des Conradi-Trochschen Verfahrens 37mal = 26,4 Proz. Diphtheriebacillen

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 14:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

nachgewiesen werden. Beide Methoden zusammen genommen hatten 39 mal = 27,9 Proz. ein positives Ergebnis.

Die Unterschiede zwischen Löffler- und Tellurplatte sind nach diesen beiden Untersuchungen gering.

Aber auch in einer anderen Beziehung konnte Klunker die Behauptung Conradis nicht ganz unterschreiben. Nach seinen Beobachtungen an einem Berliner Diphtheriestamm bildete dieser nicht nur tiefschwarze Kolonieen, sondern auf derselben Platte auch graue und grauschwarze. Auch der Staphylococcus aureus bildete tiefschwarze Kolonieen, die, makroskopisch betrachtet, den echten Diphtheriekolonieen täuschend ähnlich sahen. Der Verfasser kommt deshalb zu dem Schluß, daß die neue Platte wohl eine Verbesserung, aber keine wesentliche bedeute. Zu ähnlichen Ergebnissen gelangten auch Axionow und Knoll.

Etwas günstigere Resultate hatten Schürmann und Hajos. Diese beiden Autoren schreiben in Nr. 17 der Deutsch. med. Wochenschr. 1913 folgendes:

„Durch Anreicherung auf Löffler-Platte mit nachheriger Verwendung der Tellurplatte erhielten wir in 7,4 Proz. der mit der Löffler-Platte negativ ausgefallenen Untersuchungen noch ein positives Resultat auf der Tellurpatte, wodurch die Zahl der positiven Fälle von 25,1 Proz. auf 32,3 Proz. stieg. Wenn auch von uns bei weitem nicht ein so hoher Anstieg der positiven Fälle mit der Tellurplatte, wie es die Conradi-Trochschen Versuche aufwiesen, erreicht wurde, sprechen unsere Resultate doch für die Brauchbarkeit dieses neuen Nährbodens. Durch direkte Aussaat des diphtherieverdächtigen Materials auf Löffler- und Tellurplatten ohne Anreicherung ergab sich folgendes:

„Negatives Resultat auf Löffler- und Tellurplatte in 85 Fällen, positives Resultat auf Löffler- und Tellurplatte in 33 Fällen = 25,5 Proz. positives Resultat nur auf der Tellurplatte in 15 Fällen = 12 Proz. Auch mit diesem Verfahren sind unsere Resultate bedeutend günstiger resp. zugunsten der Tellurplatte ausgefallen, als die von Wagner in gleicher Weise angestellten Versuche. (Wagner stieg um 8 Proz. und wir um 12 Proz.).“

Auf der 7. Tagung der freien Vereinigung für Mikrobiologie in Berlin 1913 verhielt man sich noch abwartend gegenüber der neuen Conradischen Platte. Dold-Straßburg gab dort in der Diskussion über die Diphtheriefrage an, daß er 52 Rachenabstriche gleichzeitig nach der alten Löfflerschen und der neuen Conradischen Methode untersucht hätte. Nur einmal gab die Tellurplatte positive Diphtherie an, während die Löffler-Platte negativ war, aber dreimal war es umgekehrt. Bruno Heymann-Berlin stellte mit 500 verschiedenen diphtherieverdächtigen Untersuchungsproben drei Serien von Vergleichsuntersuchungen zwischen Löffler- und Conradi-Platte an, und kam zu dem Ergebnis, daß die Tellurplatte wohl ganz entbehrt werden könnte. Löffler-Greifswald lehnt den Tellurzusatz ab, weil trotz der schönen Schwarzfärbung der Diphtheriebacillenkolonieen eine Anzahl anderer Mikroorganismen, namentlich Staphylokokken, ebenso schwarze Kolonieen liefern. Neisser-Frankfurt betont am Schluß der Diskussion über die Diphtheriefrage, daß der Nachweis der besseren Leistungsfähigkeit des neuen Verfahrens noch zu erbringen sei.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 14:51 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

In Nr. 20 der Münch. med. Wochenschr. 1913 veröffentlichte Conradi einen Artikel über ein neues Prinzip der elektiven Züchtung und seiner Anwendung bei Diphtherie. Lange und Nitsche haben beobachtet, daß gewisse Bakterienarten ein Bestreben zeigen, an Kohlenwasserstoffen zu adhärieren. Es sind das nach ihren Beobachtungen diejenigen Bakterienarten, deren Membran eine Fettschicht bildet. Aber auch Unterschiede der Oberflächenspannung, die zwischen Keim und Wasser einerseits und Keim und Kohlenwasserstoff andererseits bestehen, werden dem Phänomen zugrunde gelegt. Elmore benutzte den gleichen Vorgang zu einem Erzscheideverfahren mit Hilfe von Wasser und Oel, so werden z. B. Kupfer- und Schwefelkieskörnchen von Oel umhüllt und entgegen ihrer Eigenschwere über Wasser gehalten.

Diese Erfahrungen waren für Conradi der Anlaß, zu einem Verfahren, die Diphtheriebacillen vermöge ihrer Lipoidhülle von den überwuchernden Saprophyten im Rachen- und Nasensekret, insbesondere den Staphylokokken und Heubacillen zu trennen. Er glaubte zu beobachten, daß ein einfaches Aufschütteln der Diphtherietupfer mittels Petroläther oder Pentan genüge, die störenden Saprophyten auszuschalten. Die Diphtheriebacillen sollen sich in der Grenzschicht zwischen Kohlenwasserstoff und Wasser ansammeln.

Von den Kohlenwasserstoffen der Methanreihe benutzte Conradi sowohl Petroläther als auch Pentan. In dem Lehrbuch der chemischen Technologie von Ost wird Petroläther als ein Gemisch bezeichnet, das hauptsächlich aus Pentan, C_5H_{12} und Hexan C_6H_{14} besteht. Der Siedepunkt des Petroläthers liegt zwischen 40 und 70°, das spez. Gewicht zwischen 0,64 und 0,65. Conradi gebraucht zu seiner Methode den Aether Petroli des Deutschen Arzneibuches, welcher nach dem oben erwähnten Lehrbuch als eine gut gereinigte Fraktion mit einem Siedepunkt von 55—75° und mit einem spez. Gewicht von 0,64—0,67 bezeichnet wird. Das von Conradi benutzte Pentan (Kahlbaum-Berlin) hat ein spez. Gewicht von 0,628 und einen Siedepunkt, der zwischen 31 und 32° liegt.

Der kulturelle Nachweis gestaltet sich nach Conradi folgendermaßen:

„Sterilisierte, je 10 ccm physiologische Kochsalzlösung enthaltende Röhrchen werden bei 37° C im Wasserbade gehalten. In jedes Röhrchen gibt man einen infizierten Diphtherietupfer, beläßt ihn hier ein Viertelstunde und schüttelt ihn dann sorgfältigst in der erwärmten Kochsalzlösung aus. Hierauf werden ca. 2 ccm Petroläther (oder noch besser Pentan) hinzugefügt und die mit sterilen Gummistopfen versehenen Röhrchen kräftig durchgeschüttelt, dann wartet man ungefähr 5 Minuten bis zur Entmischung von Wasser und Petroläther. Nun taucht man in die Petrolätherschicht einen auf folgende Weise hergestellten Oelstab. Dünne Holzstäbchen werden am unteren Ende mit entfetteter Watte kleinfingerdick etwa 3 cm hoch in Form einer Halbkugel umwickelt. Um die Watte wird eine kleine runde Scheibe Filtrierpapier gelegt. Watte und Filtrierpapier werden durch dünnen Draht am Stab befestigt. Die fertigen Stäbe hält man sterilisiert vorrätig. Vor jedesmaligem Gebrauch wird das untere Ende des Oelstabes in sterilisiertes Olivenöl eingetaucht. Ist das überschüssige Oel abgelaufen, so wird der Oelstab, wie bereits erwähnt, in die Petrolätherschicht des Röhrchens hinabgelassen. Alsdann wird der Petroläther von der saugfähigen Watte vollständig auf-

Generated on 2019-09-15 14:51 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

gesogen, während außen am geölten und daher bakteriendichten Filtrierpapier die Keime der Petrolätherschicht adhärieren. Hingegen gleiten Wassertropfen, sowie die im wässerigen Medium befindlichen Bakterien vom Oelpapier restlos ab. Selbst bei einem unvorsichtigen Eindringen des Oelstabes in die Wasserschicht bleiben dennoch die hier verteilten Keime nicht an ihm haften. Der Oelstab stellt also gewissermaßen eine Bakterienfalle für die Keime der Petrolätherschicht dar. Nach vollzogener Keimaufnahme wird schließlich der Oelstab unter beständigem Drehen auf einer Tellurplatte ausgestrichen und letztere in der üblichen Weise weiterverarbeitet. Meistens führt diese Züchtung zu folgendem Ergebnis. Entweder wachsen Diphtheriebacillen, die Diagnose ist positiv, oder aber die Tellurplatte bleibt nahezu steril. Auf Grund der bisherigen Befunde darf erwartet werden, daß die geschilderte Methode der elektiven Züchtung nicht nur bei Diphtherie, Tuberkulose, Lepra und Milzbrand, sondern auch bei allen Infektionskrankheiten, deren Erreger an Kohlenwasserstoffen adhärieren, Eingang finden wird."

Um über die von Conradi angegebene Methode ein Bild zu bekommen, machte ich folgenden Vorversuch:

In ein Röhrchen mit etwa 1 ccm Kochsalzlösung wurden je eine Oese Coli- und Diphtheriebacillen sowie Staphylokokken geimpft. In das Röhrchen tauchte ich sterile Tupfer. Mit zwei solchen Tupfern wurde das Oeltupferverfahren angestellt. Da der 1. Oeltupfer die ganze Petrolätherschicht nicht aufsog, wurde noch ein zweiter Oeltupfer genommen und beide auf je eine Conradi- und eine Löffler-Platte ausgestrichen, ebenso wurden von der zurückgebliebenen Kochsalzlösung je 0,35 ccm auf eine Tellur- und eine Serumplatte gebracht. Nach 24 Stunden waren alle Conradi-Platten mit grauschwarzen und schwarzen Kolonieen besät. Es zeigte sich bei mikroskopischer Nachuntersuchung, daß auf allen 6 Conradi- und Löffler-Platten sowohl Diphtheriebacillen als auch Staphylokokken gewachsen waren. Coli-Bacillen fanden sich nicht. Dieser Vorversuch steht in einem gewissen Widerspruch zu den von Conradi aufgestellten Behauptungen, denn einerseits gingen nicht alle Diphtheriekeime in die Kohlenwasserstoffschicht über, und andererseits wurden in der Petrolätherschicht ebensoviel Staphylokokken wie Diphtheriebacillen gefunden.

Das Ergebnis veranlaßte mich zu einem zweiten eingehenderen Vorversuch. In 1 ccm sterile Kochsalzlösung übertrug ich je eine Oese Diphtheriebacillen, Heubacillen, Staphylokokken und gelbe Sarcinen. Vier Tupfer wurden nach dem von Conradi angegebenen Oeltupfer-Petrolätherverfahren untersucht; den einen Oeltupfer tauchte ich nur in die Kohlenwasserstoffschicht und rollte ihn dann auf je eine Löffler- und Conradi-Platte aus; den zweiten Oeltupfer ließ ich die Grenzschicht aufsaugen und strich ihn ebenfalls auf 2 solcher Platten aus; sodann wurden jedesmal von der zurückgebliebenen Kochsalzlösung mit 2 Tupfern noch je 0,05 ccm auf 2 Platten gebracht. Das Resultat der 4 Serienuntersuchungen ist in folgender Tabelle zum Ausdruck gebracht.

Nach dieser Tabelle bestätigt sich nicht, daß nur die Diphtheriebacillen in die Kohlenwasserstoffschicht übergehen; Heubacillen, Staphylokokken und gelbe Sarcinen sind sogar in größerer Menge in der obersten Schicht zu finden; in der Grenzschicht überwiegen aber die Diphtheriebacillen; in der zurückbleibenden Kochsalzlösung ist die Zahl der Diphtheriestäbchen wesentlich geringer wie die der anderen Mikroben.

Generated on 2019-09-15 14:51 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

	Diphtheriebacillen	Heubacillen	Staphylokokken	Gelbe Sarcinen
I. Der Tupfer ist nur in die Kohlenwasserstoffschicht getaucht:	+	++	++	++
II. Der Tupfer ist nur in die Grenzschicht getaucht:	++	+	+	++
III. Einige Tropfen der zurückbleibenden Kochsalzlösung:	+	+++	++	++

Anmerkung: Die verschiedene Anzahl der +-Zeichen soll angeben, in welchem ungefähren Zahlenverhältnis die einzelnen Keime auf jeder Platte zueinander stehen.

Nun wurden 42 Rachenabstriche zuerst nach der alten Methode ausgestrichen und sodann dem Petroläther-Oeltupferverfahren unterworfen. Die Untersuchung erfolgte bei allen Platten am nächsten Morgen, also nach 20—24 Stunden. Von den 42 Rachenabstrichen hatten 11 Fälle gleiche Ergebnisse sowohl nach dem Ausstrichverfahren als auch nach dem neuen Verfahren. Nur nach dem alten Löfflerschen Ausstrichverfahren positiv waren 8 Fälle, dagegen ergaben 4 Rachenabstriche nur nach der neuen Conradischen Ausschüttelungsmethode ein positives Resultat.

Es blieb also das Petrolätherverfahren hinter der alten Löfflerschen Methode etwas zurück. Ich gab infolgedessen das Petrolätherverfahren auf und benutzte ausschließlich Pentan, das sich als brauchbarer erwies. Es rührt dies wahrscheinlich daher, daß das Pentan spezifisch leichter ist als Petroläther (Pentan = 0,628 spez. Gew. und Petroläther = 0,64 bis 0,67 spez. Gew.) Infolge des leichteren spez. Gewichtes hat das Pentan einen größeren Auftrieb, und es ist daher wohl erklärlich, daß es Bacillen, die in der Kochsalzlösung an ihm adhärieren, energischer nach oben reißt als Petroläther.

Nach dem Pentanverfahren wurden 200 Fälle untersucht. 64 Fälle stammen von Kindern des Martinhauses zu Roda (Idiotenanstalt). Seit Jahren tritt dort die Diphtherie endemisch auf. Da es nahelag, an Bacillenträger zu denken, so wandte sich die Anstalt an die hiesige mit dem Hygienischen Institut verbundene „Untersuchungsstelle für infektiöses Material“ mit der Bitte, die Rachenabstriche sämtlicher Kinder daraufhin zu untersuchen. Nach der alten Löffler-Methode konnten bei 3 Rachenabstrichen Diphtheriebacillen nachgewiesen werden. 2 dieser Fälle waren auch nach dem Pentanverfahren positiv, aber der 3. negativ; bei 2 anderen Tupfern wurde nach dem Pentanverfahren einwandfreie Diphtherie ermittelt, während die Löffler-Platte versagte. Insgesamt fanden sich nach der Conradischen Methode 4 Bacillenträger, während das Löffler-Verfahren allein nur 3 anzeigte. Beide Verfahren zusammen ergaben 5 Bacillenträger.

Reichhaltiger ist das Ergebnis der Untersuchungen von Rachenabstrichen solcher Patienten, die den einschickenden Aerzten als diphtherieverdächtig erschienen. Es handelt sich im ganzen um 136 solcher Fälle. Die einlaufenden Proben wurden sofort auf je eine Löffler- und Conradi-Platte ausgestrichen. Hierauf wurde der Tupfer nach dem Pentanverfahren Conradis, wie oben geschildert, verarbeitet, und ebenfalls auf je einer Löffler- und Conradi-Platte abgerollt. Sämtliche 4 Kulturen kamen auf 20—24 Stunden in den Brutschrank.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 14:51 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Lfd. No.	Ausstrichverfahren		Pentanverfahren		Bemerkungen
	Löffler-Platte	Conradi-Platte	Löffler-Platte	Conradi-Platte	
1	—	—	—	+	Auf Löffler-Platte Staphylokokken Auf Conradi-Platte Diphtherie
2	—	—	+	+	Beide Platten Di-Reinkultur
3	+	+	—	—	Auf beiden Platten Staphylokokken und Hefen
4	+	+	+	+	Auf beiden Platten fast Reinkultur
5	—	+	—	+	Beide Platten Staphylokokken, auf C. noch Diphtherie
6	—	+	—	—	Beide Platten zeigen Reinkultur von Staphylokokken
7	+	+	+	+	Auf beiden Platten Diphtheriereinkultur
8	—	—	—	+	L.: Hefen und Streptokokken C.: Diphtherie und Hefen
9	—	—	—	+	L.: steril C.: Di-Reinkultur
10	+	—	+	+	Auf beiden Platten Diphtheriereinkultur
11	+	+	—	+	L.: steril C.: Di-Reinkultur
12	+	+	—	+	L.: wenige Staphylokokken C.: außerdem noch Diphtherie
13	+	+	—	—	Auf beiden Platten Staphylokokkenreinkultur
14	+	+	+	+	Beide Platten zeigen Di-Reinkulturen
15	+	+	—	—	Auf beiden Platten Strepto- und Staphylokokken
16	—	+	—	—	Beide Platten sind steril
17	+	+	—	—	L.: Hefen C.: steril
18	+	+	+	+	Auf beiden Platten Reinkultur von Diphtherie
19	+	+	+	+	Auf beiden Platten Reinkultur von Diphtherie
20	—	—	—	+	L.: Staphylokokken und Hefen C.: Staphylokokken u. wenige Di-Kolon.
21	+	+	+	+	Auf beiden Platten Di-Reinkultur
22	—	—	+	+	Auf beiden Platten Hefen, Staphylokokken und Diphtherie
23	—	+	—	+	L.: 2—3 Kolonieen Staphylokokken C.: Staphylokokken und Diphtherie
24	+	+	+	+	Auf beiden Platten Reinkultur von Diphtherie
25	+	+	+	+	Auf beiden Platten Hefen, Staphylokokken und Diphtherie
26	+	+	—	+	L.: Staphylokokken C.: Staphylokokken und Diphtherie
27	+	+	+	+	Auf beiden Platten Reinkultur von Diphtherie
28	+	+	+	+	L.: Diphtherie und Staphylokokken C.: Diphtheriereinkultur
29	+	+	—	+	L.: Staphylokokken C.: Di-Reinkultur
30	—	+	—	+	L.: Bac. subtilis C.: Diphther., Strepto- u. Staphylokokken
31	+	+	+	+	L.: Streptokokken C.: Streptokokken verm. mit Diphtherie
32	—	—	—	+	L.: steril C.: Diphtherie und Hefen
33	+	—	+	+	Auf beiden Platten Reinkultur von Diphtherie
34	—	—	+	+	Auf beiden Platten Reinkultur von Diphtherie

Generated on 2019-09-15 14:51 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Lfd. No.	Ausstrichverfahren		Pentanverfahren		Bemerkungen
	Löffler-Platte	Conradi-Platte	Löffler-Platte	Conradi-Platte	
35	+	+	—	—	Auf beiden Platten Hefen und Kokken
36	+	+	+	+	Auf beiden Platten Kokken und Diphtherie
37	+	+	+	+	Reinkultur von Diphtherie auf beiden Platten
38	—	+	—	—	Auf beiden Platten Streptokokken
39	+	+	—	—	Beide Platten sind steril
40	+	+	+	+	Reinkultur von Diphtherie
41	+	+	—	+	Auf beiden Platten Diphtherie und Staphylokokken
42	+	+	+	+	Reinkultur von Diphtherie
43	+	+	—	+	L.: Staphylokokken C.: Staphylokokken und Diphtherie
44	+	+	+	+	Auf beiden Platten Diphtherie und Staphylokokken
45	—	—	+	+	Auf beiden Platten Diphtherie, Hefen und Staphylokokken
46	+	+	—	—	Auf beiden Platten Hefen und Staphylokokken
47	+	+	+	+	Auf beiden Platten Diphtherie und Staphylokokken

Anmerkung: Die Bemerkungen beziehen sich nur auf die Löffler- und Conradi-Platte des Pentanverfahrens.

Nach dieser Zeit erfolgte eine genaue makroskopische Prüfung der einzelnen Nährböden. Hierauf wurden von jeder Platte mindestens 6—8 Färbepräparate nach Löffler und nach Gins angefertigt. Um bei zweifelhaften Fällen echte Diphtheriebacillen von Pseudodiphtheriebacillen zu unterscheiden, wurden die betreffenden Kulturen auf ihr Verhalten zu Lackmustraubenzucker-Nährböden geprüft. Es gelang auf diese Weise in 10 Fällen beide Formen zu trennen. Bei ganz unsicheren Kulturen wurde außerdem das Tierexperiment herangezogen. Die Platten, auf denen die Oeltupfer ausgerollt waren, untersuchte ich genau wie die obigen Ausstriche.

Die vorstehende Tabelle gibt eine Uebersicht über die positiven Befunde meiner 200 Pentanuntersuchungen. Die negativen Fälle wurden in gleicher Weise verarbeitet.

Das Ergebnis obiger Tabelle läßt sich folgendermaßen zusammenfassen:

Der besseren Uebersicht halber sind in den untenstehenden Einzeltabellen die 4 Platten mit Buchstaben bezeichnet, und zwar:

Löffler-Platte im Ausstrichverfahren = Platte: LA.
Conradi- „ „ „ = „ CA.
Löffler- „ „ Pentanverfahren = „ LP.
Conradi- „ „ „ = „ CP.

Tabelle I.

Gesamtzahl der positiven Fälle	Gesamtzahl der negativen Fälle	Positive im Ausstrichverfahren	Positive im Pentanverfahren	Auf allen 4 Platten LA., CA., LP., CP. waren positiv	negativ
47	153	38	37	17	153

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 14:51 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

In Prozenten ausgedrückt sind von den 200 Fällen 47 = 23,5 Proz. positiv. Das alte Ausstrichverfahren nach Löffler ermittelte 38 Fälle = 19 Proz., das Pentanverfahren dagegen 37 Fälle = 18,5 Proz. Es ist also nach meinen Untersuchungen das Pentanverfahren dem Löffler-Verfahren gleichwertig.

Die folgende Tabelle möge zeigen, wie sich das Ergebnis der einzelnen Platten gestaltet:

Tabelle II.

Platte LA.		Platte CA		Platte LP.		Platte CP.	
+	−	+	−	+	−	+	−
32	168	36	164	23	177	37	163

Aus dieser Tabelle geht hervor, daß in beiden Verfahren die Conradi-Platte der Löffler-Platte ein wenig überlegen ist, wie dies schon von anderer Seite bestätigt worden ist (siehe: Wagner, Klunker etc.). Die größte Anzahl positiver Fälle zeigt das Pentanverfahren in Verbindung mit der Tellurplatte an.

Die obige Behauptung wird durch Tabelle 3 weiter bestätigt:

Tabelle III.

Nur auf Platte LA. positiv	Nur auf Platte CA. positiv	Nur auf Platte LP. positiv	Nur auf Platte CP. positiv
0	3	0	4

Niemals findet sich ein positiver Befund auf der Löffler-Platte, sofern zugleich die Tellurplatte negativ ist, dahingegen ist die Tellurplatte viermal im Pentanverfahren und dreimal im Ausstrichverfahren positiv.

Nur auf 2 Platten positiv waren:

Tabelle IV.

Nur auf LA. und CA.	Nur auf LA. und LP.	Nur auf LA. und CP.	Nur auf CA. und LP.	Nur auf CA. und CP.	Nur auf LP. und CP.
7	0	0	0	2	4

Es bestätigt sich wieder, daß die Löffler-Platten niemals Diphtheriebacillen enthielten, während die zugehörigen Conradi-Platten negativ waren. In 2 Fällen weisen die Tellurplatten allein in beiden Verfahren einen positiven Befund auf.

Nur auf 3 Platten positiv waren:

Tabelle V.

Nur auf LA., CA. und LP.	Nur auf LA., CA. und LP.	Nur auf LP., CP. und LA.	Nur auf LP., CP. und CA.
0	5	2	0

Generated on 2019-09-15 14:51 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Hieraus geht hervor, daß das Löffler-Ausstrichverfahren in Verbindung mit der Löffler- und Conradi-Platte und mit dem Pentanverfahren auf der Conradi-Platte fünfmal einen übereinstimmenden positiven Befund gibt, während das bei der Löffler-Platte des Ausstrichverfahrens und dem Pentanverfahren auf beiden Platten zweimal der Fall ist.

Die obigen Tabellen gestatten den zahlenmäßigen Vergleich der beiden in Betracht kommenden Verfahren sowie der beiden benutzten Nährböden. Die folgenden Einzelübersichten sollen nachweisen, wie sich das Wachstum und das Vorkommen der Diphtheriebacillen zu dem Auftreten der saprophytischen Bakterien auf den obenerwähnten 2 Plattenarten des Pentanverfahrens verhalten.

Nach dem Pentanverfahren wuchsen nur Diphtheriebacillen:

Tabelle VI.

Auf den Platten LP. und CP.	Nur auf Platte LP. (Löffler-Platte)	Nur auf Platte CP. (Tellurplatte)
15 Fälle	0	3 Fälle

Das sind zusammengenommen 18 Fälle = 38 Proz. aller positiv befundenen Rachenabstriche. Auch hier zeigt sich, daß die Tellurplatte der Löffler-Platte etwas überlegen ist.

Diphtheriebacillen vermischt mit Staphylokokken finden sich:

Tabelle VII.

Auf beiden Platten: LP. und CP.	Nur auf Platte LP.	Nur auf Platte CP.
in 3 Fällen	in 1 Fall	in 7 Fällen

Es folgt aus dieser Zusammenstellung, daß die Conradi-Platte mehr Staphylokokken nachweist, als die Löffler-Platte. Allerdings kommt in Betracht, daß die Anzahl der positiven Fälle auf der Conradi-Platte nicht unerheblich größer ist.

Die Tabelle 8 gibt Auskunft über das Vorkommen von Diphtheriebacillen zusammen mit anderen Bakterien außer Staphylokokken:

Tabelle VIII.

Auf beiden Platten LP. und CP.	Nur auf Platte LP.	Nur auf Platte CP.
in 4 Fällen	0	in 3 Fällen

Aus der kleinen Tabelle folgt, daß auf der Löffler-Platte Diphtherie vermischt mit anderen Keimen außer Staphylokokken niemals vorkam, während das bei der Tellurplatte 3mal der Fall war.

Pseudodiphtheriebacillen oder diphtheroide Formen fanden sich:

Generated on 2019-09-15 14:51 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Tabelle IX.

Auf beiden Platten LP. und CP.	Nur auf Platte LP. (Löffler-Platte)	Nur auf Platte CP. (Tellurplatte)
in 2 Fällen	in 1 Fall	in 2 Fällen

Ein Unterschied ist also nicht zu bemerken, die Zahlen sind für einen Vergleich auch zu klein.

Ueberblicken wir die Reihe der 153 bei dem angewendeten Pentanverfahren negativ ausgefallenen Fälle, so ergeben sich für die beiden Platten einige nicht uninteressante Beobachtungen.

Nach dem Pentanverfahren blieben steril:

Tabelle X.

Beide Platten LP. und CP.	Nur Platte LP. (Löffler-Platte)	Nur auf Platte CP. (Tellurplatte)
in 82 Fällen	in 7 Fällen	in 7 Fällen

Diese Tabelle ist eine Stütze der Conradischen Behauptung, denn eine solche Anzahl steriler Platten wird bei dem Löfflerschen Ausstrichverfahren nicht gefunden. Es trifft also zu, daß das Pentanverfahren viele Keime ausscheidet. Conradi geht sogar so weit, daß er behauptet, bei negativem Diphtheriebefund blieben die Platten des Oeltupferverfahrens nahezu steril. Eine Differenz zwischen der Löffler- und der Conradi-Platte tritt beim Pentanverfahren nicht hervor.

Unter den anderen nicht steril gebliebenen aber auch keine Diphtheriebacillen enthaltenden Platten werden nur Staphylokokken gefunden.

Tabelle XI.

Auf beiden Platten LP. und CP.	Nur auf Platte LP. (Löffler-Platte)	Nur auf Platte CP. (Tellurplatte)
in 33 Fällen	in 7 Fällen	in 5 Fällen

Es folgt aus dieser Tabelle, daß reine Staphylokokkenkulturen häufig vorkommen, im Gegensatz zu der von Conradi aufgestellten Behauptung.

Auch andere Keime werden oft gefunden, wie folgende Uebersicht zeigt.

Streptokokken oder Hefen oder Heubacillen noch vermischt mit Staphylokokken ergaben:

Tabelle XII.

Platte LP. und CP.	Nur Platte LP. (Löffler-Platte)	Nur Platte CP. (Tellurplatte)
29 Fälle	11 Fälle	2 Fälle

Für diese Bakterien scheint die Löffler-Platte einen etwas günstigeren Nährboden zu bilden.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 14:51 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Kurz nach Beendigung dieser Arbeit wurde im Centralblatt für Bakteriologie I. Abt. Originale. Bd. 71. Heft 2—3 eine Arbeit von Georg Rhodovi veröffentlicht, welcher ebenfalls die neue Conradische Methode einer Nachprüfung unterzogen hatte. Rhodovi fand schon in einem Versuch mit Reinkulturen, daß nicht allein Diphtheriebacillen, sondern auch Staphylokokken und Heubacillen in die Kohlenwasserstoffschicht übergehen. Auch eine Vergleichsuntersuchung von künstlichen Bakteriengemischen und Rachenabstrichen zeigte eine gute Uebereinstimmung, in dem Sinne, daß die Behauptung Conradis, entweder Wachstum in Reinkultur oder sterile Platte nicht zu Recht besteht. Außerdem hatte das neue Verfahren nach der Nachprüfung Rhodovis gegenüber der alten Löffler-Methode bei 58 Rachenausstrichen 7 Versager; nach meinen Untersuchungen ist jedoch die neue Conradische Methode dem Ausstrichverfahren gleichwertig.

Zusammenfassung.

I.

Die Behauptung Conradis, daß mit Hilfe des Oeltupferverfahrens auf den Platten entweder Diphtherie in Reinkultur oder gar keine bzw. wenige Keime wachsen, besteht nach meinen Untersuchungen nicht ganz zu Recht. Auf den Platten wurden in 38 Proz., d. h. $^1/_3$ der positiven Fälle, Diphtheriebacillen in Reinkultur gefunden. In den andern positiven Fällen, also in 62 Proz., fanden sich außer Diphtheriestäbchen noch Staphylokokken, Heubacillen, Streptokokken und Hefen.

Die Hoffnung, vermittels des neuen Verfahrens eine größere Uebersichtlichkeit zu erhalten, bestätigt sich somit nur teilweise.

II.

Im allgemeinen geht aus meinen 200 Pentanuntersuchungen hervor, daß das Oeltupferverfahren dem Ausstrichverfahren auf der Löffler-Platte zum mindesten gleich, sogar etwas überlegen ist.

III.

Da die Bereitung der Nährböden auch teurer ist, und da die ganze Methodik umständlicher und zeitraubender ist, kann das an sich gute Verfahren für größere Betriebe der Untersuchungsstellen kaum empfohlen werden.

Generated on 2019-09-15 14:51 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Adolf Salomonsohn-Stiftung.

Aus der **Adolf Salomonsohn-Stiftung**, welche den Zweck hat, „Beihilfen zu gewähren behufs Förderung wichtiger Arbeiten auf den Gebieten der Naturwissenschaften (einschließlich Biologie und Medizin) durch hervorragend tüchtige Kräfte, denen für die längere Dauer der Forschung genügende Mittel nicht zur Verfügung stehen", sind stiftungsgemäß bis zu 2600 M. zur Verwendung verfügbar.

Bewerbungen sind bis zum 1. März 1914 schriftlich an den Ministerialdirektor Dr. Schmidt in Berlin, Wilhelmstraße 68, mit der Aufschrift „Adolf Salomonsohn-Stiftungssache" zu richten.

Berlin, den 5. Februar 1914.

Das Kuratorium.

Dr. Schmidt, Ministerialdirektor.	Adolf Salomonsohn, Rechtsanwalt und Notar a. D.	Dr. Orth, Geh. Medizinalrat und Professor.

Inhalt.

Bahr, L., Einige Virulenzversuche mit Mereshkowskys Hühnereiweißdekokt, p. 143.

Eisenberg, Philipp, Untersuchungen über die Variabilität der Bakterien. III., p. 81.

Galli-Valerio, B., Smithia talpae n. sp. (Piroplasmidae) chez Talpa europaea L., p. 142.

Huntemüller, Neuartige Parasitenbefunde bei der Jerichobeule, p. 137.

Klimenko, W. N., Zum Befunde choleraähnlicher Vibrionen bei Kindern, p. 127.

Markl, Kasuistischer Beitrag zur Rattenpest, p. 135.

Schiller, Ignace, Sur les produits des microbes en association, p. 123.

Schulze, Eine Nachprüfung des von Conradi angegebenen Oeltupferverfahrens zum Nachweis von Diphtheriebacillen, p. 148.

Die Redaktion des „Centralblatts für Bakteriologie und Parasitenkunde" richtet an die Herren Mitarbeiter die ergebene Bitte, etwaige Wünsche um Lieferung von besonderen Abdrücken ihrer Aufsätze entweder bei der Einsendung der Abhandlungen an die Redaktion auf das Manuskript schreiben zu wollen oder spätestens nach Empfang der ersten Korrekturabzüge direkt an den Verleger, Herrn Gustav Fischer in Jena, gelangen zu lassen.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 14:51 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Centralbl. f. Bakt. etc. I. Abt. Originale. Bd. 73. Heft 3.
Ausgegeben am 21. März 1914.

Nachdruck verboten.

Pathologisch-anatomische Beobachtungen über einige Fälle von Cholera asiatica.

[Aus dem Städtischen Bakteriologischen Laboratorium zu Venedig.]
Von Dr. **Matteo Ciaccia.**

Das Kapitel über die pathologisch-anatomischen Veränderungen beim Studium der asiatischen Cholera ist eines von denen, die die Aufmerksamkeit der Forscher vor und nach der Entdeckung des spezifischen Infektionserregers am meisten auf sich gezogen haben. Denn die Kenntnis desselben beleuchtet einerseits den innersten pathogenetischen Mechanismus der Krankheitssymptome und individualisiert andererseits den Läsionenkomplex, der als Folge der Krankheit angetroffen wird, und erlaubt bis zu einem gewissen Punkt, von diesen zur Ursache zurückzugehen.

Und bei Durchsicht der einschlägigen Literatur kann man sich davon überzeugen, daß die Mehrheit der Organe, und zwar besonders diejenigen, deren alterierte Funktion mit den Besonderheiten des komplexen Krankheitsbildes in Zusammenhang gebracht werden kann, untersucht worden sind. Noch immer aber gehen die Ansichten der verschiedenen Beobachter auseinander und nicht gering sind die Meinungsverschiedenheiten über das Vorherrschen der einen oder der anderen Läsion in den einzelnen Organen. Nicht unnütz erscheint mir somit der bescheidene Beitrag einiger Beobachtungen, die ich während des 2. Semesters 1910 als Assistent des Bakteriologischen Laboratoriums der Stadt Neapel zu machen Gelegenheit hatte.

Mit der Entnahme von Proben zur bakteriologischen Sicherstellung der Diagnose bei unter dem Verdacht auf Cholera gestorbenen Individuen beauftragt, habe ich ein ziemlich reichliches Untersuchungsmaterial zu meiner Verfügung gehabt. In der Tat handelt es sich um 148 Obduktionen, bei denen ich, obwohl ich wegen der Art und des Zweckes der Arbeit keine geregelten und vollständigen pathologisch-anatomischen Untersuchungen ausführen konnte, doch Erscheinungen antreffen konnte, die ich ihrer Charaktere und ihrer Häufigkeit halber für beachtenswert halte.

Ich schicke hier voraus, daß die bakteriologischen Untersuchungen an dem Inhalt des Darmes ausgeführt wurden, von dem stets 2 Schlingen entnommen wurden: die eine aus dem mittleren Teil des Dünndarmes und die andere unmittelbar oberhalb der Ileocöcalklappe. Für den Nachweis des Kochschen Vibrio, der für den Inhalt jeder Schlinge gesondert erfolgte, wurde die sorgfältigste Technik verwendet.

Eine erste beachtenswerte Erscheinung bezieht sich auf die äußere Untersuchung der Leiche.

Es handelt sich dabei um eine besondere Starrheit der Haut, wodurch sie mit den darunterliegenden Aponeuroseschichten verwachsen scheint und sich nur schlecht in Falten abheben läßt. Beim Versuch, dies zu tun, bekommt man ein deutliches, schwer zu beschreibendes Gefühl des

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 14:51 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Widerstandes und der Pastosität. Im folgenden bezeichne ich es der Kürze halber als Hautzeichen.

Obwohl dieses Zeichen mit dem ganzen Komplex besonderer pathologischer Verhältnisse der Haut, die bereits intra vitam in Erscheinung treten, zusammenhängt, hat es bisher noch keine besondere Beachtung gefunden. Ebensowenig findet sich bei den früheren Autoren ein Hinweis auf dasselbe, wenn man von der Hervorhebung der Persistenz der abgehobenen Hautfalten während der Krankheit absieht.

Dies aber, das auch bei der Leiche der Fall ist, ist etwas ganz Verschiedenes von dem, worauf ich die Aufmerksamkeit lenke. Denn ein Ding ist das Stehenbleiben der Falte, wenn sie abgehoben wird; etwas anderes der spezielle Widerstand, auf den man beim Abheben stößt und der den Eindruck macht, als ob die Haut gedehnt sei und mit den Muskelmassen, die sie überzieht, ein einziges Ganze bilde.

Die Erscheinung wird an der ganzen Körperoberfläche beobachtet, ist aber am deutlichsten und leichtesten an den Stellen zu konstatieren, wo die Haut unter normalen Verhältnissen und bei Individuen, die an sonstiger Krankheit verstorben sind, durch ihre anatomischen Verhältnisse selbst am leichtesten in Falten abhebbar ist (Oberfläche der Extremitäten, vordere seitliche Fläche des Brustkorbes).

Ihre Evidenz wird weder durch das Alter, noch durch den Ernährungszustand beeinflußt, ebensowenig wie die Verschiedenheit der klinischen Form und die Dauer der Krankheit irgendeine Wirkung hat.

Es schien mir interessant, ihre Wichtigkeit den sonstigen pathologisch-anatomischen Merkmalen und dem bakteriologischen Befund gegenüber festzustellen, und ich kann sagen, daß sie, obwohl sie mit der seit dem Ableben verflossenen Zeit etwas an Intensität wechselt, niemals fehlt, wenn sich die anatomische und bakteriologische Diagnose auf Cholera aufdrängt. Ja sie ist die am konstantesten beobachtete Erscheinung, während sie in den Fällen, in denen eine andere Todesursache sicher festgestellt werden konnte, durchaus fehlte. Hinzufügen möchte ich sodann, daß sich unter der Gesamtheit der gemachten Beobachtungen, wie aus der weiter unten gebrachten Tabelle ersichtlich ist, eine Gruppe von Fällen befindet, bei denen dieses Zeichen mitsamt allen sonstigen Merkmalen bei der äußeren Untersuchung der Leiche und sämtlicher oder einiger innerer Organe (Darm, Leber, Nieren) zwar manifest und charakteristisch, die bakteriologische Diagnose aber negativ gewesen ist. Ueber diese Gruppe aber halte ich es nicht für unnütz, später einige Betrachtungen gesondert folgen zu lassen.

Wenig läßt sich über die Deutung des fraglichen Phänomens sagen. Wahrscheinlich dünkt es mich jedoch, daß es auf einen besonderen Zustand der Rigidität und verminderten Elastizität der Muskel- und Bindegewebsfasern der Haut selbst und des subkutanen Bindegewebes zurückzuführen sein dürfte, dem vielleicht auch das eigentümliche gefältelte Aussehen der Haut der Extremitäten zuzuschreiben ist, da es wenig wahrscheinlich erscheint, daß diese durch bezeichnende Analogien verknüpften Erscheinungen von der Austrocknung der Gewebe abhängen. Denn sie treten auch dann auf, wenn wegen des äußerst raschen Verlaufes der Krankheitsform die diarrhoischen Verluste gering oder gleich Null gewesen sind.

Nicht überflüssig ist es vielleicht, hier zu betonen, daß dieses Zeichen nicht nur konstant von mir beobachtet worden ist, sondern auch leicht nachweisbar ist, derart, daß es mir bei 3 als Cholerafälle zur Meldung

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 14:54 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

gekommenen Todesfällen möglich war, diese Diagnose schon nach der äußeren Untersuchung der Leiche stark in Zweifel zu ziehen. Der anatomische und bakteriologische Befund hat mir später recht gegeben.

Der erste von diesen Fällen, ein 37-jähriger Eisenbahner, war von plötzlichem Uebelsein und Magenschmerzen während der Arbeit befallen worden. Nach seiner Wohnung verbracht, hatte er schwarzes Erbrechen gezeigt, zu dem sich zahlreiche Entleerungen von derselben Natur gesellten, und war in 6 Stunden gestorben. Bei der Sektion wurde ein Aneurysma des ersten Abschnittes der absteigenden Aorta gefunden. An der Stelle, wo dieselbe sich auf die Medianlinie legt und hinter dem Oesophagus hindurchgeht, hatte der Aneurysmasack Verwachsungen mit dessen hinterem Teil eingegangen. Dieser Verwachsung entsprechend hatte sich ein ganz kleines Loch gebildet, wodurch eine Verbindung zwischen dem Lumen der Aorta und dem der Speiseröhre entstand; und dadurch war die ganze Blutmasse langsam in den Magendarmkanal übergegangen. Bakteriologische Untersuchung negativ.

Der zweite, ein junger Arbeiter im Alter von 18 Jahren, war unter einer stürmischen Symptomatologie verstorben: Erbrechen, Bauchschmerzen, zahlreiche Entleerungen. Bei der Sektion: Perforiertes rundes Geschwür des ersten Abschnittes des Duodenum. Diffuse jauchige Peritonitis.

Der dritte Fall betraf eine 65-jährige Frau, die unter verdächtiger, nicht präzisierter Symptomatologie zum Exitus kam. Anatomische Diagnose: Darmverschluß durch Abknickung infolge eines großen Tumors des letzten Abschnittes des Dünndarms. Nekrose des gedehnten Stückes; diffuse serös-eitrige Peritonitis.

Ein anderer Umstand, der für die Diagnose wie für die Pathogenese der Cholera keine geringe Bedeutung erwirbt, betrifft die Leber und die Niere. In ihnen werden mit großer Konstanz — habe ich sie doch bei $^3/_4$ der untersuchten Fälle angetroffen — vorgeschrittene Läsionen durch fettige Entartung wahrgenommen.

Diese stellen nicht nur den Wirkungsexponenten besonderer toxischer Stoffe und das Substrat funktioneller Störungen dar, die zum großen Teil für die Erklärung der klinischen Form von Bedeutung sind, sondern durch ihre Konstanz und ihre besondere Augenfälligkeit auch eine Unterstützung der Diagnose bei der Sektion.

Die Leber ist konstant vergrößert, von kirschroter Farbe mit blassen Zonen und gelblichen Abtönungen, die hier und da besonders an dem kleinen Flügel stärker ausgeprägt sind. Das Aussehen des Organs läßt die spezielle Struktur nicht mehr erkennen und wird durch Kongestionszonen, injizierte Gefäßverzweigungen, kleine, durch die Kapsel sichtbare Blutungen und die Anwesenheit verschieden großer Flecken von einem sehr evidenten Strohgelb gesprenkelt. Die letzteren von rundlicher, polygonaler Form, oder verschiedenartig ausgezackt, sind zuweilen selten, einer oder zwei auf der ganzen Oberfläche, andere Male zahlreicher, konfluieren untereinander und nehmen schließlich einen großen Teil der Oberfläche selbst ein. Auch die Größe eines jeden wechselt, und zwar schwankt der Durchmesser zwischen 0,5—3—4 cm.

Ihre zentrale Partie ist homogen, ohne deutliche Struktur, die periphere dagegen ist durch Gewebsschollen von normaler Farbe, durch

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 14:54 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Gefäßinjektionen und kleine auf dem gelben Grund sichtbare Blutungen zerschnitten.

Ihre Anordnung ist eine unregelmäßige, aber auch wenn sie in geringer Anzahl vorhanden sind, sieht man einige an den Seiten des sichelförmigen Bandes oder auf dem kleinen Flügel, der im allgemeinen blasser als das übrige Organ erscheint.

Die Konsistenz der Leber ist weich, pastös, und der Fingerdruck hinterläßt meist einen dauernden Eindruck.

Am Schnitt zeigt sich das Parenchym feucht, schmierig, meist blutreich, von blasser Farbe.

Die histologische Untersuchung zeigt, daß die schwersten Läsionen zu Lasten der Leberzellen sind. Diese sind größtenteils deformiert, trüb, granulös; die Kerne an einigen Stellen blaß und zuweilen unsichtbar. Es werden auch Zonen wahrgenommen, in denen die Zellen ein gequollenes, glasiges, durchsichtiges Protoplasma aufweisen (glasige Entartung von Hanot).

Die charakteristische Anordnung der Leberzellen ist vernichtet: die Trabekeln sind verlagert, unterbrochen, desorientiert; die Kapillaren erweitert und mit Blut angefüllt. Zahlreich sind die kapillaren Blutungen sowohl an der Peripherie wie in der Dicke der Läppchen.

Die diffuseste Veränderung ist aber die Fettentartung, die nicht nur die Leberzellen, sondern auch die Wände der Gefäße in Mitleidenschaft zieht. Die Gefäßendothelien und die Muskelfasern der Media erscheinen in der Tat von verschieden großen, durch Osmiumsäure geschwärzten Körnchen durchsetzt.

Die Alteration ist in der zentralen und peripheren Zone des Lappens gleich diffus, erscheint aber stellenweise von verschiedener Intensität, und zwar geht diese den oben beschriebenen Flecken entsprechend so weit, daß an den nach Flemming fixierten Präparaten einige Gewebsstücke in ein Konglomerat von verschieden großen schwarzen Tropfen verwandelt sind. Diese Abschnitte gewinnen an nicht mit Osmiumlösungen fixierten Präparaten unter dem Mikroskop ein schwammartiges Aussehen.

Keinerlei Beziehung scheint zwischen den vorstehend beschriebenen Läsionen und der Fettentartung zu bestehen, denn zahlreiche Fetttröpfchen sind auch an den Stellen sichtbar, wo die Zellen keine sonstigen Alterationen aufweisen. Nur die von der Hanotschen Entartung befallenen Abschnitte scheinen verschont.

In gleicher Weise zeigt sich die Niere auch bei der makroskopischen Untersuchung schwer alteriert. Sie ist mäßig vergrößert, weich, pastös, blaßgrau, zuweilen mit einem leichten gelblichen Ton, zuweilen gleichmäßig und sehr scharf strohgelb. Durch die Kapsel scheinen die kongesten Verheyenschen Sternchen durch.

Am Schnitt ist das Parenchym weich, schmierig, zuweilen von einem gleichförmigen Grau, das den Unterschied zwischen Mark- und Rindensubstanz zu einem wenig deutlichen macht; meistens dagegen erscheint diese in bezug auf die Marksubstanz vergrößert, von einem trüben Grau mit einem leichten gelblichen Ton, und mit ihr kontrastiert die rosige oder dunkelrote Farbe der Markkegel, wo die radiäre Streifung der Gefäße immer recht evident ist. In den vorgeschrittensten und charakteristischsten Fällen ist die Rindensubstanz sehr ausgeprägt strohgelb und die Marksubstanz zeigt häufig hämorrhagische Herde von intensiv roter Farbe, die gegen die Peripherie verblaßt.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 14:54 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Unter dem Mikroskop werden Läsionen sämtlicher Epithelien wahrgenommen von den Malpighischen Glomeruli zu den Tubuli contorti, den Henleschen Schleifen, den Tubuli recti und Tubuli collectores.

In den Malpighischen Körperchen zeigen sich die Gefäßschlingen gedehnt und kongest: Die Epithelzellen sind häufig abgeschuppt und die Kerne werden durch Zerstörung des Protoplasmas frei, so daß man den Eindruck bekommt, als ob sie in Vermehrung begriffen wären.

Im Labyrinth zeigen die Epithelialzellen geschwollenes, trübes, körniges Protoplasma mit nicht gut definierten Grenzen; die Heidenhainschen Streifen sind verschwunden. Der Kern ist meist verschont und mehr oder weniger färbbar. Die Epithelien sind überdies häufig von der Wand abgelöst und das Lumen des Kanälchens ist mit trübem, körnigem Exsudat und Zelldetritus angefüllt. In den vorgeschritteneren Stadien sind die Zellen vollständig aufgelöst und in Detritus verwandelt, der in das Lumen des Kanälchens fällt. Die Vergrößerung der Zellen, ihre Verlagerung von der Wand weg und die Anwesenheit der vorgenannten Exsudate und Detritus führen zur Okklusion großer Strecken der Kanälchen selbst.

Häufig sind die interkanalikulären kapillaren Blutungen; in den Pyramiden werden größere Blutungsherde und zuweilen Bluterguß in das Lumen der Tubuli angetroffen.

An den nach Flemming fixierten Präparaten erscheinen sämtliche Epithelien und namentlich die des Labyrinths und der Glomeruli in mehr oder weniger vorgeschrittener Fettentartung begriffen. Die Fetttröpfchen sind zuweilen äußerst zahlreich, im Protoplasma dicht zusammengedrängt und von verschiedener, manchmal recht bedeutender Größe. Dieser Prozeß befällt auch die Gefäßwände. Zahlreiche Fettkörnchen zeigen sich in der Tat in den Wänden der Kapillaren, und mehr noch im Endothel und in den Muskelfasern der Media, und zwar sowohl in den Arterien wie in den Venen.

Alter	Gesamtzahl	Männer	Frauen	Prozent	Ergebnis der bakteriologischen Untersuchung	Innere Organläsionen		Hautzeichen	
						+	—	+	—
—10	46	28	18	31,08	+ 42	38	4	42	
					— 4	3	1	4	
10—20	10	8	2	6,75	+ 9	9		9	
					— 1		1		1
20—30	21	13	8	14,18	+ 20	14	6	20	
					— 1	1		1	
30—40	21	10	11	14,18	+ 19	15	4	19	
					— 2	1	1	1	1
40—50	16	6	10	10,80	+ 15	9	6	15	
					— 1	1		1	
50—60	13	5	8	8,78	+ 13	5	8	13	
					—				
60—70	15	8	7	10,13	+ 14	6	8	14	
					— 1		1		1
70—80	5	—	5	3,37	+ 5	2	3	5	
					—				
80—90	1	1	—	0,67	+ 1		1	1	
					—				
	148	79	69						

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 14:54 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Ich schließe die Beschreibung der wichtigsten konstatierten Erscheinungen damit, daß ich die untersuchten Fälle in einer Tabelle zusammenstelle, wobei ich sie nach Geschlecht und Alter ordne und jeweils die Ergebnisse der bakteriologischen Untersuchungen und Anwesenheit oder Fehlen des Hautzeichens und der Leber- und Nierenläsionen einzeichne. Was die letzteren anbelangt, so bemerke ich, daß in der Tabelle das Zeichen + oder — sich ausschließlich auf die makroskopisch feststellbare fettige Entartung in den beiden Organen und namentlich in der Leber bezieht.

Aus dem vorstehend Dargelegten ergibt sich einerseits die große Häufigkeit von Fettentartungsläsionen der Leber und der Niere bei den von mir beobachteten Leichen und andererseits die Ausdehnung und Schwere der Läsionen selbst, die die Oberhand gewinnen und andere überdecken, wodurch das makroskopische und mikroskopische Bild eine besondere Physiognomie bekommt.

Diese Beobachtung verdient wegen ihrer Bedeutung sowohl für die Pathologie der Infektion wie für deren Diagnosestellung nach dem Tode in anderen Epidemieen nachgeprüft zu werden. Hier möchte ich nur hinzufügen, daß bereits andere, wenngleich an einer beschränkteren Anzahl von Fällen, diese Läsion angetroffen hatten. Unter den hauptsächlichsten erwähne ich die Arbeiten von Reinhardt u. Leubuscher[1]), Meyer[2]), Buhl[3]), Kelsch[4]), Tizzoni u. Cattani[5]), Klebs[6]).

Bevor ich zum Schlusse komme, halte ich es für angebracht, einige Betrachtungen über den ätiologischen Mechanismus der beschriebenen Läsionen kurz zusammenzufassen.

Denn wenn es wahr ist, daß bei einer Krankheit, bei der wahrscheinlich eine Hauptrolle einer schweren Intoxikation, deren Herd der Darm ist, zukommt, die Folgen dieser sich ein wenig auf sämtliche Organe und Gewebe geltend machen müssen, so ist es ebenso offensichtlich, daß Leber und Niere deren Effekte hauptsächlich verspüren müssen. Und in der Tat ist erstere durch ihre Topographie und Struktur nicht nur die erste Station, wohin das mit den toxischen aus den Darmwänden resorbierten Produkten beladene Blut gelangt und sich ausgiebig in Kontakt mit den Parenchymelementen verteilt, sondern es muß auch ihre daraus sich ergebende Funktionsstörung mit aller Wahrscheinlichkeit auf den Darmbereich zurückwirken. Andererseits ist die Lokalisation des Keimes in den letzten Gallenwegen festgestellt, und obwohl noch präzise Daten ausstehen, läßt sich eine solche im Parenchym selbst nicht ausschließen. Somit ergeben sich zwischen dem Darm, dem ersten Herd der Infektion, und der Leber komplexe und wichtige Beziehungen von Ursache zur Wirkung, die noch nicht gut aufgeklärt sind und deren Bedeutung in dem Mechanismus der Krankheitsform vielleicht eine kapitale ist.

1) Virchows Arch. Bd. 2. 1849.
2) Virchows Arch. Bd. 6. 1854.
3) Zeitschr. f. rationelle Med. 1853.
4) Arch. de physiol. norm. et pathol. T. 1. 1874.
5) Centralbl. f. d. med. Wissensch. 1887.
6) Allgem. pathol. Anatomie. 1887.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 14:54 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Die Niere sodann befindet sich ihrer Struktur und Funktion zufolge in unmittelbarem und engstem Kontakt mit den toxischen Stoffen, mit denen sich das Blut beladen hat und für die sie den Hauptausführungsweg darstellt. Abgesehen übrigens von den anatomischen Feststellungen ist die Klinik die erste, die uns auf dieses Organ als Sitz der frühesten und schwersten Schädigungen des Funktionsvermögens hinweist.

Ohne somit das Vorhandensein von Läsionen in anderen Organen und ihre Bedeutung in der klinischen Phänomenologie leugnen zu wollen, glauben wir hier doch behaupten zu dürfen, daß Leber und Niere mit ihren Alterationen die zwei springenden Punkte darstellen, um die herum sich die ganze Krankheitsform ausgestaltet. Hieraus folgt die Wichtigkeit der Feststellung der schweren Organschädigungen, die dem gestörten Funktionsvermögen zugrunde liegen.

Dies vorausgeschickt, wäre es von großem Interesse, den pathogenetischen Mechanismus derselben bestimmen zu können.

Zwei Vermutungen können in der Hinsicht aufgestellt werden, die das innerste Wesen der Krankheit selbst angehen und gesondert von mir untersucht werden sollen.

Die erste derselben leitet sich von der Auffassung der Cholera als einer schweren spezifischen Intoxikation ab. Bereits Koch[1]) führte schon im Jahre 1884 die Kundgebung der charakteristischen klinischen Symptome auf das durch die Vibrionen im Darm erzeugte und durch das Blut resorbierte Gift zurück. Und später bekräftigte Gaffky die Vorstellung, indem er die Krankheit als eine Blutvergiftung durch Resorption des Darmgiftes definierte: als etwas dem Tetanus und der Diphtherie Aehnliches.

Nach diesen Vorstellungen sind sämtliche Veränderungen der Organe und die konsekutiven Manifestationen der Ausdruck der Wirkung spezifischer Endotoxine, die im Darm aus dem Vibrio frei werden.

Zur Unterstützung dieser Hypothese liegen experimentelle Daten von großer Wichtigkeit vor. Ich möchte hier die Arbeit von Padoa[2]) anführen, der durch Injektion von alten filtrierten und sterilisierten Kulturen in die Pfortader bei Kaninchen Leberläsionen erzielte, die den beim Menschen beschriebenen sehr nahe kommen; und neuestens die von Orsi[3]), dem es durch Einimpfung des Kochschen Vibrio in die Leber oder in die Gallenblase von Tieren (Hunden, Kaninchen, Meerschweinchen) gelungen ist, experimentell ohne weitere Kunstgriffe die Krankheitsform mit intestinaler Lokalisation des Keimes ohne offensichtliche Symptome zu produzieren; aber auch bei den so behandelten und verendeten Tieren hat er die diffuse Fettentartung der Leber und Niere nachweisen können. Nach Maßgabe dieser experimentellen Beobachtungen und der bakteriologischen und klinischen Befunde in den letzten Epidemieen erfährt die ursprüngliche Vorstellung von Koch allerdings eine tiefgehende Modifikation, insofern es nicht möglich ist, den Uebergang des Vibrios in das Blut und seine Lokalisation in den Organen, namentlich in der Leber, auszuschließen; aber die Spezifität der Läsionen bleibt dadurch wirkungsvoll bestätigt.

Die zweite Vermutung gipfelt in der Möglichkeit, daß der Choleravibrio nur eine lokale Wirkung mit den konsekutiven schweren Läsionen

1) Fortschr. d. Med. 1884.
2) Riforma med. Vol. 22. 1906.
3) Atti della R. Acc. Medico-chirurgica di Napoli. 1912.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 14:54 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

der Darmschleimhaut entfalte, die für sich selbst zu notwendigen und hinreichenden Bedingungen zum Uebertritt toxischer im Darm enthaltener und möglicherweise auch bakterielle Natur besitzender Produkte in den Kreislauf würden.

Dieser Anschauung hat es nicht an Verteidigern gefehlt, und ihr kommen auch diejenigen nahe, die, zu wiederholten Malen die Spezifität des Kochschen Vibrios einschränkend oder in Abrede stellend, der Meinung sind, daß auch andere Keime überhaupt und andere Vibrionen im besonderen, die von dem ersteren mehr oder weniger abweichen, das ganze Bild der Krankheit zu reproduzieren vermögen.

Und hier dürfte es angebracht sein, nach Maßgabe dieser beiden Meinungen einige Details der oben aufgeführten Tabelle etwas näher zu betrachten. Denn aus ihr ist ersichtlich, daß nicht weniger als 7 Fälle unter der Gesamtzahl der Beobachtungen, obwohl sie vollständig das pathologisch-anatomische Bild der Cholera aufwiesen, keine Vibrionen im Darminhalt hatten.

In bezug auf die zweite oben dargelegte Hypothese ließe sich nun annehmen, daß auch ohne spezifischen Vibrio vereinzelte Fälle vorkommen können, die nicht nur klinisch, sondern auch pathologisch-anatomisch die Krankheitsform reproduzieren. Und dieser Gedanke orientiert die Auffassung der oben beschriebenen speziellen Wirkungen gegen die Nichtspezifität hin, insofern sie die Folge der Wirkung von bereits im Darm enthaltenen toxischen Substanzen wären, unter denen die durch die Gruppe des Bact. coli erzeugten Wichtigkeit besäßen, die, wie nachgewiesen worden ist, steatogenes Vermögen haben.

Aber nach Maßgabe der ersten Hypothese, die als die bewiesenste und am meisten den heutigen Kenntnissen über die Wirkung der pathogenen Keime überhaupt und des Kochschen Vibrios im besonderen entsprechend erscheint, muß zugegeben werden, daß es Todesfälle an Cholera gibt, bei denen es der Untersuchung des Darminhalts, so sorgfältig sie auch ausgeführt werden mag, nicht gelingt, den spezifischen Vibrio nachzuweisen.

Zur Bekräftigung dieser Möglichkeit liegt die nunmehr gewöhnliche Beobachtung von Cholerakranken mit intermittierender Anwesenheit von Vibrionen in den Faeces vor und die weitere Feststellung von Vibrionen in der Gallenblase und nicht im Darm von Verstorbenen. Von diesen zwei Tatsachen aber, die beide für die bakteriologische Diagnose der Cholera von Wichtigkeit sind, verliert die erste in dem speziellen Fall an Wert, weil die Untersuchung an dem Inhalt von verschiedenen Darmabschnitten gemacht worden ist; die zweite ist in den veröffentlichten Beobachtungen nicht frequent genug, um 7 Fälle auf 148 d. h. 4,72 Proz. erklären zu können. Jedenfalls sehen wir hier wieder die Notwendigkeit erhärtet, daß bei der bakteriologischen Sicherstellung eines verdächtigen Falles nach dem Tode außer den Darmschlingen die Gallenblase entnommen werde.

Wenn jedoch, alles in allem, diese beiden Betrachtungen, eine jede für sich allein, nicht imstande sind, den scheinbaren Widerspruch zu erklären, so können sie, zusammen genommen und unter Berücksichtigung auch der Tatsache, daß die Vibrionen nach dem Tode ziemlich rasch aus dem Darminhalt verschwinden, die Wichtigkeit einer Fehlerquelle bei der Diagnose dartun, zu deren Vermeidung vielleicht die Berücksichtigung des besonderen Aussehens und der großen Häufigkeit der beschriebenen Läsionen von Nutzen sein kann.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 14:55 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Jedenfalls ist meiner bescheidenen Ansicht nach zur Vervollständigung des pathologisch-anatomischen Bildes der Cholera in ihrer Morphologie und Aetiologie die sorgfältige bakteriologische und histologische Untersuchung jener Fälle erforderlich, die offensichtliche Berührungspunkte mit dem Bild dieser Krankheit besitzen.

Zum Schlusse sei es mir gestattet, Herrn Prof. Cimmino, Direktor des städtischen bakteriologischen Laboratoriums, der mir während dieser Arbeit bereitwilligst mit seinem Rat zur Seite stand und sämtliche notwendigen Untersuchungshilfsmittel, mit denen das Laboratorium reich ausgestattet ist, zu meiner Verfügung stellte, meine aufrichtige Dankbarkeit auszudrücken.

Ebenso danke ich Herrn Prof. J. Bandi[1]), der bereits am 28. Okt. 1910 die Güte hatte, in einem Vortrag in der Soc. Toscana d'Igiene die erste von mir gemachte Beschreibung der Leber- und Nierenläsionen mitzuteilen und dann in der Riv. critica di Clinica Med. prächtige Abbildungen von ihm von mir gelieferten anatomischen Stücken und Präparaten veröffentlichte.

Nachdruck verboten.

Beobachtungen über das epidemische Auftreten von Darmkatarrhen und Typhus abdominalis.

[Aus dem bakteriologischen Laboratorium des k. u. k. Militärsanitätskomitees (Vorstand: Prof. Dr. Robert Doerr).]

Von Privatdozent Dr. **V. K. Russ.**

Mit 1 Textfigur.

Im folgenden soll kurz eine Epidemie von Darmkatarrhen beschrieben werden, die in ihrer Aetiologie und in ihrem Verlaufe manches Bemerkenswerte zeigte.

Schon zu Beginn des Monates Februar 1913 konnten in der Festungskaserne von Brod a. d. Save unter der Mannschaft, deren Zahl damals 1400—1900 Mann betrug, vereinzelte Fälle von akuten Darmkatarrhen beobachtet werden. Der rasche und völlig harmlose Verlauf gab zu keinerlei Bedenken Anlaß und erforderte auch keine sonderlichen prophylaktischen Maßnahmen. Gegen Schluß des genannten Monates häuften sich die Fälle jedoch in auffallender Weise, so daß der in Brod diensttuende Militärarzt die Vermutung hegte, es müsse sich um eine Infektion mit gemeinsamer Ansteckungsquelle, vielleicht dem Trinkwasser, handeln. Diese Anschauung fand eine Stütze in dem Umstande, daß Anfang Februar der die Kaserne mit gutem Trinkwasser versorgende Tiefbohrbrunnen, welcher eine Hauswasserleitung speist, an Ergiebigkeit beträchtlich nachließ, so daß mehrere andere im Rayon befindliche, in ihrer Konstruktion jedoch recht primitive Wasserspenden (offene Schöpfbrunnen) zur Versorgung mit Nutzwasser herangezogen werden mußten, dessen Verwendung zu Trinkzwecken jedoch streng untersagt wurde. In dieser Hinsicht ward derart vorgesorgt, daß einwandfreies Wasser in

1) Riv. critica di Clin. Medica. Vol. 9. 1910.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 14:55 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Fässern von außen her zugeführt und unter Aufsicht verteilt wurde. Es sei gleich hier betont, daß die notwendige Betriebseinstellung der Wasserleitung die Beseitigung der Abfallstoffe wesentlich erschwerte, da in der Kaserne Schwemmkanalisation eingeführt ist, welche mittels der Wasserleitung aufrecht erhalten wird. Um nun dem durch den Wassermangel eingetretenen Uebelstande — Stagnation der Fäkalien in den Kanälen — wenigstens teilweise zu begegnen, wurde zeitweise von den Abortbrillen aus vermittels einer Feuerspritze Wasser aus den Nutzbrunnen in die Kanäle eingetrieben, eine Maßregel, die sich als Notbehelf recht zweckmäßig erwies. Verschiedene andere allgemeinprophylaktische Maßnahmen schienen insofern von Erfolg begleitet zu sein, als in der ersten Märzwoche der tägliche Krankenzugang ganz bedeutend sank und schließlich nur ganz vereinzelte Fälle zur Beobachtung gelangten. Damit schien die Sache erledigt, doch blieben trotzdem die strengen Anordnungen allgemein hygienischer Natur aufrecht, die Wasserzufuhr funktionierte in befriedigender Weise dank der außerordentlich strengen Beaufsichtigung durch alle maßgebenden Faktoren.

Am 20. April 1913 meldete sich nun wieder eine größere Anzahl von Soldaten mit Erscheinungen von Darmkatarrh krank. Während die früher beobachteten Fälle unter Diarrhöen, Appetitlosigkeit, leichten Temperatursteigerungen nur 1—3 Tage krank waren, währte nun das Unwohlsein länger. Die Erkrankung setzte meist mit profusen Diarrhöen ein, wobei die Stühle einen sehr penetranten Geruch aufwiesen, gleichzeitig klagten die Patienten über Frösteln, Kopfschmerzen, Druckempfindlichkeit des Abdomens und Appetitlosigkeit. Die Körpertemperatur stieg in der Mehrzahl der Fälle nicht über 38—38,5° C, doch konnten vereinzelt auch Fieber bis 39° C und darüber beobachtet werden. Dabei machte sich ein außerordentliches Schwächegefühl geltend. Nach Ablauf von 2—5 Tagen nahmen die Stühle eine konsistentere Form an, die Beschwerden schwanden, die Temperatur sank auf die Norm und es stellte sich wieder Appetit ein. Bei einem kleinen Bruchteil der Erkrankten dehnte sich die Erkrankung unter den beschriebenen Symptomen auf 6—8 Tage aus, ging aber dann ebenfalls rasch in Genesung über. Die genaue klinische Untersuchung jedes Falles durch den diensttuenden Arzt ließ am 23. April bei einem Manne N. den Verdacht rege werden, daß es sich nicht um einen gewöhnlichen Darmkatarrh, sondern um Typhus abdominalis handle. Während alle bisher erkrankten Personen im Marodenzimmer untergebracht worden waren, erfolgte bei diesem Patienten die sofortige Isolierung im Truppenspitale. Am 25. und 26. April wurden je 2 Soldaten ebenfalls unter Typhusverdacht an das Truppenspital abgegeben.

Unter dem Eindrucke dieses alarmierenden Ereignisses erfolgte sofort die Vernagelung aller Nutzwasserbrunnen der Kaserne, deren Wasser nur zum Ausspritzen der Kanäle herangezogen werden durfte. Zum Kochen wie zum Abwaschen der Geschirre u. dgl. war gleichfalls nur die Benutzung des zugeführten Trinkwassers gestattet.

Am 30. April ging neuerdings ein Typhuskranker dem Truppenspitale zu und wurden noch 4 weitere Soldaten als typhusverdächtig eingebracht, denen am 1. resp. 4. Mai vier weitere klinisch sichergestellte Typhen folgten. Die Zahl der gutartigen Darmkatarrhe war jedoch bereits in Abnahme begriffen.

Die so bedrohliche Situation gab der Militärsanitätsverwaltung nunmehr den Anlaß, den Berichterstatter als Fachmann zur Eruierung der

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 14:55 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Infektionsquelle und zur Bekämpfung der Seuche von Wien nach Brod a. d. Save zu senden, woselbst derselbe in Begleitung eines Laboranten mit dem systemisierten bakteriologischen Feldlaboratorium am 12. Mai 1913 eintraf. Zu diesem Zeitpunkte standen im Truppenspitale 12 Fälle von Abdominaltyphus (klinisch diagnostiziert) und 31 Fälle von akutem Darmkatarrh auf dem Marodenzimmer in Behandlung.

Nach Aufstellung des fliegenden Laboratoriums und Entgegennahme eines Situationsberichtes, der im vorangehenden kurz wiedergegeben ist, wurde sofort mit den Arbeiten begonnen, die sich vor allem auf die Aetiologie der akuten Darmkatarrhe, dann aber auch auf die Infektionsquelle dieser und der zur Beobachtung gelangten Fälle von Abdominaltyphus zu erstrecken hatten. Daneben galt es die klinisch diagnostizierten Typhen auch bakteriologisch resp. serologisch sicherzustellen.

1. Aetiologische Untersuchungen.

a) Darmkatarrhe: In erster Linie wurden von 16 am Marodenzimmer befindlichen Patienten Stuhlproben entnommen und sowohl auf Nährböden nach Lentz-Tietz als auch auf Platten mit Drigalski-Agar verstrichen. Das Resultat dieser Untersuchungen war insofern ein negatives, als auf den Platten, auch bei sorgfältigster Durchmusterung und weiterer Prüfung zahlreicher Kolonieen, keinerlei Bakterien gewachsen waren, die in irgendeinem Zusammenhange mit der gegenwärtigen Erkrankung zu bringen wären. Kulturen von mit der sterilen Spritze aus der Vena cubitalis entnommenem Blute dieser Patienten in Bouillon (Kölbchen à 50 ccm) und in Galleröhrchen nach Kayser-Conradi blieben auch bei jenen Kranken steril, die zur Zeit der Blutentnahme fieberten. Mit dem Blutserum dieser Kranken wurden nun Agglutinationsreaktionen gegen Typhus-, Paratyphus A- und B-, Dysenterie Kruse-Shiga-, Flexner-, Y- und Enteritidis Gärtner-Bacillen in Verdünnungen von 1 : 20 bis 1 : 320 angestellt, doch konnte nach 2-stündigem Aufenthalte im Thermostaten bei 37° C eine Ausflockung nicht wahrgenommen werden. Diese Untersuchungen gaben also über die Aetiologie der akuten Darmkatarrhe keinen wie immer gearteten Aufschluß.

Da man wohl mit Sicherheit annehmen konnte, daß die Erkrankungen der Februar—März-Periode dieselbe Aetiologie besaßen wie die gegenwärtigen, so wurde der Versuch gemacht, aus Agglutinationsreaktionen mit dem Serum solcher Leute, die damals die ausgeprägtesten Krankheitssymptome und Fieber aufwiesen, irgendeinen Schluß auf die mitgemachte Infektion zu ziehen. In der nachstehenden Tabelle I sind die diesbezüglichen Untersuchungen an 28, bereits seit längerer Zeit genesenen Personen zusammengestellt (s. Tabelle I).

Aus dieser Zusammenstellung geht hervor, daß das Serum von 3 Genesenen den Bac. enteritidis deutlich, eines in Spuren agglutinierte. Typhusbacillen wurden von vier Seris deutlich, von zweien spurweise ausgeflockt. Aus diesen Untersuchungsresultaten ließ sich auch wenig Aufklärung über die Aetiologie der Erkrankung gewinnen. Daß hier lauter Typhusfälle mit ganz leichtem Verlaufe vorgelegen hätten, war von vornherein ausgeschlossen, denn eine Epidemie von mehreren Hundert abortiven Typhen ohne einen einzigen typischen ist natürlich undenkbar. Außerdem konnte bei den Leuten G. R. und J. K. erhoben werden, daß sie vor ihrer Militärdienstzeit an einer länger dauernden Krankheit gelitten hatten, deren Beschreibung es wahrscheinlich machte, daß es sich um Typhus gehandelt hat. Es blieb nun noch in Erwägung

Generated on 2019-09-15 14:55 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Tabelle I.

Unterabteilung des Inf.-Reg. No. 52	Name	Bakterienspecies: Typhus		Paratyphus A		Paratyphus B		B. enteritidis Gärtner		Dysenterie Kruse-Shiga		Dysenterie Flexner		Dysenterie Y	
		Verdünnung des Patientenserums: 30	60	30	60	30	60	30	60	30	60	30	60	30	60
Stab	A. E.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	W. J.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1. Kompanie	A. W.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	G. B.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	L. K.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	G. M.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	K. M.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2. Kompanie	J. B.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	J. M.	0	0	0	0	0	0	+++	++	0	0	0	0	0	0
3. Kompanie	A. K.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4. Kompanie	J. K.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
13. Kompanie	J. V.	0	0	0	0	0	0	++	++	0	0	0	0	0	0
	F. J.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
14. Kompanie	G. B.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	F. B.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	E. K.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
15. Kompanie	G. D.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	J. A.	++	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	G. R. [1])	+++	+++	0	0	0	0	+++	++	0	0	0	0	0	0
Inf.-Reg. No. 78	J. Ko.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1. Kompanie	Za.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Ka.	+	+	0	0	+	+	0	0	0	0	0	0	0	0
	Sta.	Spur	Spur	0	0	Spur	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2. Kompanie	Sze.	Spur	0	0	0	0	0	Spur	0	0	0	0	0	0	0
	Da.	++	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Jo.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
15. Kompanie	To.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Ho.	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

1) Titergrenze des Serums 1 : 480.

Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Digitized by Google
Generated on 2019-09-15 14:55 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

zu ziehen, ob man es mit Infektionen mit Bac. enteritidis Gärtner zu tun hatte. Der relativ geringe Prozentsatz der positiven Agglutinationsreaktionen gestattet diesbezüglich kaum einen Wahrscheinlichkeitsschluß, wenn auch diese Möglichkeit nicht absolut von der Hand zu weisen ist.

Es wurden nun von jenen Leuten, die einen positiven Widal zeigten und von einer Anzahl anderer in der Tabelle angeführten Stuhluntersuchungen (nach Eingabe von 1 Löffel Rizinusöl) angestellt, die den Zweck verfolgten, eventuelle Dauerausscheider ausfindig zu machen. Es konnten aber in den Faeces keines Mannes irgendwelche pathogene Mikroorganismen (Typhus-, Gärtner-Bacillen) oder sonstwelche verdächtige Keime nachgewiesen werden.

So war also vorläufig die Aetiologie der akuten Darmkatarrhe völlig im Dunklen geblieben.

b) Typhus: Bei den im Truppenspitale untergebrachten Patienten, bei welchen die klinische Diagnose „Typhus" außer Zweifel stand, wurden lediglich Stuhluntersuchungen vorgenommen, die in 4 von 9 untersuchten Fällen ein positives Resultat gaben. Jenen Leuten, die fieberten und mit Typhusverdacht in der Sanitätsanstalt lagen, wurde mit steriler Spritze Blut aus der Armvene entnommen und dasselbe teils in Bouillonkölbchen teils in Galleröhrchen übertragen. Die Kulturen ergaben bei allen ein positives Resultat. Desgleichen war auch die Agglutinationsreaktion mit dem Patientenserum gegenüber Typhusbacillen bei 3 Leuten bereits stark positiv, so daß also die klinische Diagnose auch ätiologisch sichergestellt wurde.

Der Verlauf der Fälle war bei mehreren ein recht schwerer, insofern als das Fieber bis über 40° C anstieg, Delirien auftraten und die Patienten außerordentlich herabkamen. Von den 13 Kranken starb einer am 8. Krankheitstage. Die übrigen wurden nach einem 4—6-wöchigen Spitalsaufenthalte geheilt entlassen.

2. Epidemiologische Untersuchungen.

a) Darmkatarrhe: Wie schon eingangs erwähnt, wurde vom Garnisonchefarzte in Brod als Ausgangspunkt der Infektionen das Wasser in der Kaserne angenommen. Gegen diese Anschauung sprach auch nicht der Umstand, daß trotz des Verbotes aus dem verdächtigen Brunnen Wasser zu trinken, doch wieder die Epidemie von neuem aufflackerte. Erfahrungsgemäß werden solche Verbote bei aller Strenge der Ueberwachung doch immer wieder übertreten, namentlich wenn die verbotene Wasserspende bequemer und leichter zu erreichen ist, als die einwandfreie. Dies bringt die Indolenz und die Ungläubigkeit der Leute gegenüber geschilderten Gefahren mit sich.

Ein Teil der epidemiologischen Untersuchungen war, soweit sie sich auf das Vorhandensein von Keimträgern oder -ausscheidern bezog, bereits durch die früher geschilderten Prüfungen mit negativem Resultate abgeschlossen.

Es blieb nun noch die Möglichkeit offen, daß die Infektion durch den Genuß verdorbener Nahrungsmittel verursacht war, wie sie teils von den Unterabteilungsküchen, teils von der in der Kaserne untergebrachten Kantine verausgabt werden konnten. Eine genaue Inspektion der Lokalitäten wie auch der vorhandenen Vorräte ließ jedoch nichts Verdächtiges bemerken. Auf Befragen gaben die Patienten und die bereits Genesenen einhellig an, daß sie keinerlei Nahrungsmittel zu sich genommen hätten,

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 14:55 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

die durch Aussehen oder Geschmack auf eine Verderbnis hingedeutet hätten.

So drängte sich doch wieder der Gedanke auf, daß die Infektionsquelle in der Wasserversorgung zu suchen sei, und dementsprechend wurden eingehende Untersuchungen der vorhandenen Wasserspender in allgemein hygienischer und speziell in bakteriologischer Hinsicht durchgeführt.

Außer dem Tiefbohrbrunnen, der die Wasserleitung speiste, befanden sich im Kasernenrayon noch fünf andere Wasserspenden, die aus einem 6—10 m tiefen gemauerten Schacht bestehen, der oben mit einem Holzkranz verschlossen ist. Als Schöpfwerk dient ein an einer Kette befestigter Eimer auf Welle. Die Brunnenmäntel sind an ihrer Innenseite mehrfach schadhaft und teilweise mit Pflanzen bewachsen. Bei den außerhalb der Kaserne befindlichen Transporthausbaracken, in welchen Mannschaften der Artillerie untergebracht waren, unter denen sich kein einziger Krankheitsfall ereignet hatte, befand sich auch ein Schachtbrunnen, dessen Zustand jedoch zu keinerlei Beanstandung in hygienischer Hinsicht Anlaß gab.

Tabelle II.

Fortlaufende No.	Nähere Bezeichnung der Wasserprobe	Physikalische Eigenschaften	Mikroskopischer Befund des Bodensatzes	Tag der Entnahme	Tag der Aussaat	Tag der Zählung der Kolonieen	Keimzahl in 1 ccm	Zahl der Arten	Nach dem Wachstum auf Drigalski-Platte verdächtige Stäbchen
1	Tiefbohrbrunnen	klar, farblos, geruchlos, sehr spärl. Bodensatz	Detritus, Sand	12. Mai 1913	12. Mai 1913	15. Mai 1913	830	4	
2	Brunnen im Garten des Offizierspavillons	klar, farblos, geruchlos, spärlicher Bodensatz	Detritus, Pflanzenfasern, Pilzfäden, Holzpartikel				2000	6	a) blaues Wachstum b) blaues Wachstum c) rotes Wachstum
3	Brunnen im Hofe des Offizierspavillons	klar, farblos, geruchlos, spärlicher Bodensatz	Detritus, Pilzfäden				600	3	
4	Brunnen vor dem östlich. Stabsgebäude	leicht milchig getrübt, geruchlos, mäßig reichl. Bodensatz	Detritus, Pflanzenfasern, Holzpartikel				1830	4	a), b), c), d) rotes Wachstum
5	Brunnen beim Arrestgebäude	klar, farblos, geruchlos, spärlicher Bodensatz	Detritus, Holzpartikel, Pflanzenfasern				2000	5	a), b), c) blaues Wachstum
6	Brunnen am Holzlagerplatz	klar, farblos, geruchlos, mäßig reichl. Bodensatz	Detritus, Pflanzenfasern, Holzpartikel, Pilzfäden				460	3	a) rotes Wachstum

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 14:55 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Als besonders verdächtig wurde der Brunnen No. 5 in der Nähe des Arrestgebäudes bezeichnet, aus dem Wasser zu Trinkzwecken entnommen zu haben einzelne Soldaten auch über eindringliches Befragen gestanden.

In erster Linie wurde nun an die bakteriologische Untersuchung der Brunnenwässer geschritten. Mittels sterilen Entnahmeapparates erfolgte die Gewinnung von Wasserproben aus den Brunnen, die dann teils in Mengen von 0,1—1 ccm auf Drigalski-Agarplatten oberflächlich verteilt, teils zu Gelatinezählplatten verarbeitet wurden. Außerdem fügten wir zu 100 ccm des zu untersuchenden Wassers den Inhalt eines Galleröhrchens nach Conradi-Kayser zu, um auf diese Weise vielleicht eine Anreicherung etwa darin enthaltener pathogener Keime zu erzielen.

Die durch die Untersuchung mit Gelatineplatten festgestellten Keimzahlen, wie auch die von den Drigalski-Platten isolierten verdächtigen (blau wachsenden) Kulturen finden sich in vorstehender Tabelle II zusammengestellt. Dortselbst sind auch die Ergebnisse hinsichtlich der physikalischen Eigenschaften und des mikroskopischen Befundes des Bodensatzes verzeichnet.

Im allgemeinen könnten die Brunnenwässer als nicht sonderlich keimarm bezeichnet werden, besonders zahlreiche Mikroorganismen wiesen aber die Wässer der Brunnen No. 2, 4 und 5 auf. Bis zu einem gewissen Grade mag der Keimreichtum, namentlich des Tiefbohrbrunnenwassers damit erklärt werden, daß durch die geringe Entnahme eine gewisse Stagnation und nachträgliche Keimvermehrung bedingt war. Die physikalischen Eigenschaften waren besonders beim Brunnen No. 4 ungünstig.

Es galt nun die durch ihr Wachstum auf den Drigalski-Platten auffälligen Keime näher zu identifizieren. In allen Fällen handelte es sich um gramnegative, plumpe Kurzstäbchen von mehr oder minder starker Beweglichkeit. Ihr Verhalten auf den für die Differenzierung in der Typhus-Coli-Gruppe wichtigsten Nährböden ist aus Tabelle III zu ersehen.

Nach dem kulturellen und morphologischen Verhalten konnten die Stämme 2b, 4a, 4b, 4c, 4d und 6a als typisches Bacterium coli angesprochen werden.

Behufs weiterer Identifizierung der Stämme 2a, 2c, 5a, 5b und 5c wurden Agglutinationsversuche gegenüber hochwertigen Typhus-, Paratyphus- und Gärtner-Immunseris angestellt (Grenztiter 1 : 4000—8000), die jedoch sämtlich auch in Verdünnungen von 1 : 100 negativ ausfielen. Diese Versuche wurden mit dem gleichen Erfolge auch später, nachdem die Kulturen schon öfter auf künstlichen Nährböden überimpft worden waren, wiederholt.

Es ließen sich also die Stäbchen, obwohl sie kulturell und morphologisch, abgesehen von 5c, viel Aehnlichkeit mit bekannten Vertretern der Typhusgruppe besaßen, durch Immunitätsreaktionen nicht identifizieren. Immerhin war es aber auffällig, daß in den Brunnen derartige Mikroorganismen enthalten waren und es mußte der Verdacht rege werden, ob nicht doch diese Keime mit den Infektionen an akutem Darmkatarrh irgendwie zusammenhängen. Irgendwelche charakteristische Stäbchen aus den Patientenstühlen zu isolieren, die man mit den im Wasser gefundenen hätte vergleichen können, war, wie erwähnt, nicht gelungen.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 14:55 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle III.

Bezeichnung der Kultur	2-proz. Nutroselösung mit			Lackmusmolke	Gasbildung aus Traubenzucker	Neutralrotagar	Milch
	Traubenzucker	Milchzucker	Mannit				
2a	Rötung und Koagulation	unverändert	Rötung	unverändert	θ	unverändert	unverändert
2b	Rötung	Rötung	Rötung	Rötung	θ	leichte Fluoreszenz	Koagulation nach 6 Tagen
2c	Rötung	unverändert	Rötung	unverändert	θ	unverändert	unverändert
4a	Rötung	Rötung	Rötung	Rötung	mäßig stark	Fluoreszenz	Koagulation
4b	Rötung	Rötung	Rötung	Rötung	mäßig stark	Fluoreszenz	Koagulation
4c	Rötung, Koagulation	Rötung	Rötung	Rötung	stark	Fluoreszenz	Koagulation
4d	Rötung, Koagulation	Rötung	Rötung	Rötung	stark	Fluoreszenz	Koagulation
5a	Rötung, Koagulation	unverändert	Rötung	unverändert	θ	unverändert	unverändert
5b	Rötung, Koagulation	unverändert	Rötung	erst Rötung, dann wieder Bläuung	schwach	geringe Fluoreszenz	unverändert
5c	unverändert	unverändert	unverändert	unverändert	θ	unverändert	unverändert
6a	Rötung, Koagulation	Rötung	Rötung, Koagulat.	Rötung	mäßig stark	Fluoreszenz	Koagulation

Wir untersuchten daher das Verhalten der gewonnenen Kulturen gegen Sera von Leuten, die einen Darmkatarrhanfall bereits überstanden hatten. Das Resultat dieser Agglutinationsreaktionen ist aus nachstehender Tabelle IV zu entnehmen.

Tabelle IV.

Serum von	2a		2c		5a		5b		5c		Bemerkung
	30	60	30	60	30	60	30	60	30	60	
G. M.	θ	θ	θ	θ	θ	θ	++	+	θ	θ	
Ka.	θ	θ	θ	θ	θ	θ	++	++	θ	θ	1:120 Spur
F. J.	θ	θ	θ	θ	θ	θ	++	+	θ	θ	
Sze.	θ	θ	θ	θ	θ	θ	++	+	θ	θ	
Ho.	θ	θ	θ	θ	θ	θ	++	++	θ	θ	1:120 Spur
J. V.	θ	θ	θ	θ	θ	θ	++	++	θ	θ	1:240 Spur
A. K.	θ	θ	θ	θ	θ	θ	+	Spur	θ	θ	
G. B.	θ	θ	θ	θ	θ	θ	Spur	Spur	θ	θ	
J. A.	θ	θ	θ	θ	θ	θ	++	++	θ	θ	1:120 Spur
Sta.	θ	θ	θ	θ	θ	θ	++	+	θ	θ	
L. K.	θ	θ	θ	θ	θ	θ	+++	++	θ	θ	1:240 Spur
G. B.	θ	θ	θ	θ	θ	θ	++	+	θ	θ	
G. R.	θ	θ	θ	θ	θ	θ	++	+	θ	θ	

Generated on 2019-09-15 14:55 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Außerdem wurden zur Kontrolle 10 Sera von Personen, die nicht an diesem Darmkatarrh gelitten hatten, auf ihr Ausflockungsvermögen gegen den Stamm 5b geprüft, doch zeigte sich in Serumverdünnungen von 1 : 10—1 : 80 keine Agglutination.

Das Ergebnis dieser Untersuchungen ist sicherlich sehr auffallend und interessant, denn es gestattet bis zu einem gewissen Grade doch den Rückschluß, daß das aus dem Brunnenwasser isolierte Stäbchen mit den Darmkatarrhen in irgendeinem ätiologischen Zusammenhange steht. Mit Sicherheit diesen Konnex zu behaupten, wäre wohl nur dann möglich, wenn man aus den Patientenstühlen einen identischen Mikroorganismus hätte isolieren können.

Es war nun noch die Frage zu erledigen, ob das gefundene Bakterium mit bereits bekannten Vertretern der Typhus-Coli-Gruppe und mit den anderen aus den Brunnenwässern isolierten Keimen in irgendeinem verwandtschaftlichen Verhältnisse steht. Zu diesem Zwecke wurde ein Kaninchen mit dem Stamm 5b immunisiert und dessen Serum auf seine agglutinatorischen Fähigkeiten gegenüber einer Reihe von Stämmen geprüft. In der nachstehenden Tabelle V sind die Resultate dieser Agglutinationen verzeichnet.

Tabelle V.

Immunserumverdünnung	5b	Typhus	Paratyphus A	Paratyphus B	Gärtner	5a	5c	2a	2c
100	+++	0	0	0	+++	++	0	0	0
200	+++	0	0	0	+++	+	0	0	0
400	+++	0	0	0	+	0	0	0	0
800	+++	0	0	0	0	0	0	0	0
1600	+++	0	0	0	0	0	0	0	0
3200	++	0	0	0	0	0	0	0	0
6400	Spur	0	0	0	0	0	0	0	0

Aus dieser Zusammenstellung ergibt sich, daß das Immunserum 5b außer dem homologen Stamm auch noch B. enteritidis Gärtner in stärkeren Konzentrationen agglutiniert und auch den Stamm 5a ein wenig auszuflocken vermag. Das erstere Resultat ist deshalb auffallend, weil ein hochwertiges Gärtner-Serum den Stamm 5b völlig unbeeinflußt ließ.

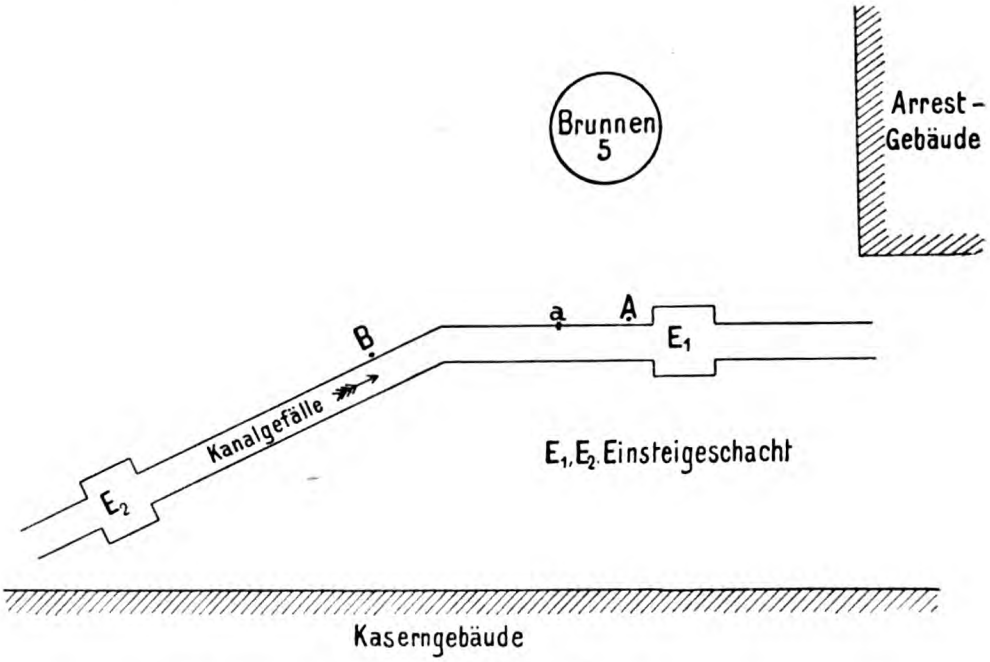
Von der Vornahme von Tierversuchen zur Feststellung der Pathogenität des Stammes 5b für gebräuchliche Laboratoriumstiere wurde abgesehen, da diese ja ohnehin einen Rückschluß auf die Virulenz eines Mikroorganismus für den Menschen nicht gestatten.

Auf welchem Wege war nun dieses Stäbchen in das Wasser gelangt? Zur Beantwortung dieser Frage ist es vorher notwendig, kurz auf die Beschreibung der in der Kaserne zu Brod a. d. S. getroffenen Einrichtungen zur Beseitigung der Exkremente einzugehen. Wie bereits erwähnt, sind Spülklosetts vorhanden, von welchen aus die Abfallstoffe in ein Kanalsystem geleitet werden, dessen Hauptrohrstrang an der Außenseite der im Viereck angeordneten Gebäude verläuft und dann in die Save abgeleitet wird. Die Kanäle bestehen aus Zementrohren und

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 14:55 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

besitzen an mehreren Punkten Einsteigeschächte. Die Situation beim Brunnen 5 nächst dem Arrestgebäude wird durch beistehende schematische Skizze veranschaulicht.

Der Kanal läuft also in einer Entfernung von ca. 3 m vom Brunnenmantel vorbei.



Die Möglichkeit einer Verunreinigung des Brunneninneren lag nun vornehmlich in zwei Richtungen vor. Entweder konnte sie durch den nur mangelhaften Verschluß der oberen Oeffnung — vielleicht mit Hilfe des Schöpfeimers — erfolgen, oder aber es bestand eine Kommunikation zwischen dem Kanalinneren und dem Brunnen. Dieser letztere Weg wurde nun in erster Linie ins Auge gefaßt, und eine zur Feststellung einer Verbindung zwischen Kanal und Brunnen geeignete Versuchsanordnung getroffen. Vorher wurden Proben des Kanalinhaltes entnommen und bakteriologisch untersucht. Das Ergebnis war insofern ein negatives, als die beschickten Platten auch bei starker Verdünnung des Ausgangsmaterials derart von Fäulniskeimen überwuchert waren, daß sich an eine Isolierung einzelner Kolonieen nicht denken ließ.

Um eine eventuelle Kommunikation nachweisen zu können, wurde der Kanal bei den Einsteigeschächten *E1* und *E2* völlig abgedichtet, und sodann bei *E2* größere Mengen Fluorescinlösung eingegossen, so daß das Kanallumen ungefähr bis zur Hälfte gefüllt war. Sodann entnahmen wir nach 2—72 Stunden mehrmals Wasserproben aus dem Brunnen aus verschiedenen Tiefen und prüften auf das Vorhandensein einer Fluoreszenz. Wir konnten jedoch eine solche innerhalb des genannten Zeitabschnittes niemals mit absoluter Sicherheit feststellen. Wohl aber wurde eine andere auffällige Erscheinung beobachtet, als man den Kanal auf die Strecke *A—B* unter Anwendung aller Vorsicht hinsichtlich einer Beschädigung durch die Arbeiten auf der dem Brunnen

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 14:55 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

zugekehrten Seite bloßgelegt hatte. Es zeigte sich, daß aus einer der Muffen (*a* in der Skizze) die grünlich gefärbte Flüssigkeit in nicht geringer Menge hervorquoll. Dadurch schien es wohl erwiesen, daß der Kanalstrang nicht eine absolute Dichtigkeit besaß, und zwar gerade an einem dem Brunnen am nächsten liegenden Punkte. Das Fehlschlagen des Fluoresceinversuches mag wohl darauf zurückzuführen sein, daß die Beobachtungszeit durch die notwendige Abreise des Berichterstatters zu kurz gewählt war, zumal wenn man berücksichtigt, daß das umliegende Terrain vielfach aus mit Lehm durchsetztem Schotter, also aus schwer durchlässigen Bodenschichten, bestand. Immerhin wird man wohl kaum fehlgehen, wenn man annimmt, daß das Wasser des Brunnens 5 auf diesem Wege verunreinigt worden war.

War nun dieser Brunnen die Infektionsquelle, so bleibt nur noch die Frage zu beantworten, wie die supponierten Erreger nun in den Verdauungskanal so zahlreicher Leute kommen konnten. Sicherlich mag bei einem Teil der Patienten die Erkrankung durch Trinken des Wassers hervorgerufen worden sein, doch kann dies allein nicht die Ursache so zahlreicher und besonders über den ganzen Kasernenrayon verteilter Fälle sein. Vielmehr dürfte in der Zeit, als die Wasserentnahme aus dem Brunnen nur mehr zu Koch- und nicht zu Trinkzwecken gestattet war, die Infektion durch die Wasserverwendung in den Küchen propagiert worden sein.

b) Typhus. Da die einzelnen Erkrankungen bei verschiedenen Unterabteilungen auftraten, so war natürlich die Suche nach der Infektionsquelle mangels jeden Anhaltspunktes außerordentlich erschwert.

Aus dem zeitlichen Auftreten und der Dislokation der erkrankten Soldaten war die Annahme einer Wasserinfektion von vornherein so gut wie ausgeschlossen, was ja auch durch die völlig negativen, bereits erwähnten diesbezüglichen Untersuchungsergebnisse bestätigt worden war. In nächster Linie wurde dann nach Dauerausscheidern gefahndet und zu diesem Zwecke eine große Anzahl von Stuhluntersuchungen bei der Mannschaft angestellt und namentlich jene Leute besonders berücksichtigt, welche nach ihren Angaben früher einmal an Darmaffektionen oder an sichergestelltem Typhus gelitten hatten (s. auch oben). Besonders hätte der Gefr. F. der 15. Kompanie in Betracht kommen können, der vor mehreren Monaten im Truppenspitale Typhus überstanden hatte, dann beurlaubt worden und vor einiger Zeit wieder zum Regimente eingerückt war. Alle diese Untersuchungen hatten jedoch ein völlig negatives Resultat, so daß man auch aus diesen Ergebnissen vermuten konnte, der Ausgangspunkt der Erkrankung sei anderwärts zu suchen. Der rege Verkehr der Soldaten mit der Zivilbevölkerung mußte nun den Verdacht wachrufen, daß die Einschleppung von außen her erfolgt sei. Durch Information bei den zuständigen Zivilbehörden wurde jedoch ermittelt, daß in Brod selbst und in der nächsten Umgebung kein Fall von Darmtyphus zur Anzeige gekommen war. Allerdings sind derartige Aufschlüsse stets in ihrer absoluten Richtigkeit mit einer gewissen Skepsis zu betrachten, da bei der Landbevölkerung vielfach auch bei schweren Krankheitsfällen ein Arzt nicht zu Rate gezogen wird und so eine Infektion nicht zur Kenntnis der Behörde gelangt.

Als den wahrscheinlichsten Ausgangspunkt der Ansteckung glauben wir doch Dauerausscheider annehmen zu müssen, die jedoch nicht inner-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 14:55 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

halb des Regiments vorhanden waren, sondern bei den in den vorangegangenen Wochen in großer Anzahl innerhalb der Kaserne für kurze Zeit bequartierten Durchzugstruppen, die vielfach aus jüngst einberufenen Reservisten bestanden. Es war natürlich nicht mehr zu eruieren, ob unter diesen Mannschaften verdächtige Leute waren, noch viel weniger konnten diesbezügliche Untersuchungen angestellt werden. Der Gedanke an diesen Infektionsweg drängte sich deshalb auf, weil alle anderen Möglichkeiten durch konkrete Untersuchungen sich als unwahrscheinlich oder direkt ausgeschlossen erwiesen.

Anhangsweise sei hier bemerkt, daß sämtliche kulturelle Untersuchungen, abgesehen von Agar nach Lentz-Tietz, mit Hilfe der „Trockennährböden" nach Doerr ausgeführt wurden, die in ihrer leichten Transportfähigkeit, guten Lösbarkeit und einfachen Handhabung sich ganz vorzüglich bewährten. Vergleichende Untersuchungen mit den gewöhnlichen Nährböden in feuchtem Zustande haben, was das Bakterienwachstum darauf anlangt, völlig gleichwertige Resultate ergeben.

3. Prophylaktische Maßnahmen.

Die getroffenen Maßregeln gegen die weitere Ausbreitung der Typhus- und Darmkatarrh-Erkrankungen decken sich im allgemeinen gegenseitig und können daher kurz zusammen besprochen werden.

Hinsichtlich der Wasserversorgung und der Beseitigung der Abfallstoffe wurde das Wichtigste gleich eingangs erwähnt. Zu letzterem Punkte sei noch erwähnt, daß im Vorraum jedes Mannschaftsabortes für Aufstellung eines Waschapparates mit 3-proz. Karbolsäure, sowie für Handtücher vorgesorgt wurde, und daß ein Unteroffizier stets darüber zu wachen hatte, daß jeder Mann nach Absetzung der Faeces sich die Hände gründlich wasche, was auch vor Einnahme jeder Mahlzeit in gleicher Weise geschah. Die Wände und der Fußboden der Aborte wurden täglich mehrmals mit Kalkmilch bestrichen, die Sitzbretter mit Karbolwasser abgerieben und in die Brillen reichlich Kalkmilch eingegossen. Auch für die peinliche Durchführung dieser Maßnahme wurde der Aufsichtsunteroffizier persönlich haftbar gemacht.

Küchengeräte, Eßgeschirre u. dgl. durften nur in 5-proz. heißer Sodalösung abgewaschen werden. Das Betreten der Küchen und Vorratsräume durch dortselbst nicht beschäftigte Personen war strengstens verboten; bei der Ausspeisung wurde die Küchentür durch einen Tisch verstellt, auf welchem die leeren Eßschalen hingestellt, durch die Köche gefüllt und von der Mannschaft wieder abgetragen wurden. Der Genuß von Salat, roher Milch oder sonstigen ungekochten Nahrungsmitteln wurde strengstens untersagt und die Mannschaft eindringlichst über das Wesen und die Infektionswege bei ansteckenden Darmerkrankungen belehrt und aufgefordert, auch bei geringstem Unwohlsein den Arzt unverzüglich aufzusuchen.

Daß auf größte Reinlichkeit innerhalb der Mannschaftszimmer geachtet wurde, die Räumlichkeiten sämtlich einer frischen Tünchung unterzogen und die Fußböden mit heißer Sodalösung aufgerieben wurden, bedarf keiner besonderen Erwähnung.

Die an Darmkatarrh erkrankten Personen wurden im Marodezimmer isoliert, genau beobachtet und, sobald die Erscheinungen den Ausbruch eines Typhus vermuten ließen, sofort in die Infektionsabteilung des Truppenspitals, jedoch getrennt von den bereits sichergestellten Typhen,

Generated on 2019-09-15 14:55 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

untergebracht. Selbstverständlich fand stets bei allen Fällen eine Stuhldesinfektion statt, wobei das Verfahren mit ungelöschtem Kalk nach M. Kaiser gute Dienste leistete.

So war es, dank der energischen Beteiligung aller maßgebenden Faktoren, gelungen, eine weitere Ausbreitung der Erkrankung zu verhüten, und bereits nach kurzer Zeit konnte an die vorgesetzten Behörden berichtet werden, daß die Epidemie erloschen sei.

Nachdruck verboten.

Zur Kritik der Friedbergerschen Anschauungen über die Doppelfunktion des Ambozeptors.

[Aus der Kgl. Universitäts-Kinderklinik Breslau (Prof. Dr. Tobler).]

Von Dr. **Georg Bessau,** I. Assistenten der Kinderklinik.

Es ist bedauerlich, aber nicht zu leugnen, daß trotz der unendlichen Mühe, welche auf das Problem der Anaphylaxie verwandt wurde, das Wesen dieser Erscheinung völlig ungeklärt ist. Die verschiedensten Hypothesen sind zur Erklärung herangezogen worden, und heute stehen sich — schärfer als je — zwei Theorieen feindlich gegenüber: die chemische Theorie des parenteralen Eiweißabbaues, und die physikalische Theorie, die in Zustandsänderungen des kolloidalen Milieus das Wesen der anaphylaktischen Giftwirkung erblickt. So viel ist sicher, daß wir zurzeit nicht wissen, was Anaphylaxie ist.

Jeder, der sich dieses eingesteht, wird bei der Begriffsbestimmung der Anaphylaxie zur Charakterisierung ihrer Versuchsbedingungen und ihrer Erscheinungsformen seine Zuflucht nehmen müssen. Die Erscheinungsformen tragen nun leider keinen spezifischen Charakter. Das Meerschweinchen, für anaphylaktische Experimente bekanntlich das Versuchstier κατ' ἐξοχήν, reagiert auf eine ganze Reihe von Eingriffen mit einem „anaphylaktischen Shock"; auch die sonstigen Erscheinungen der Anaphylaxie sind unspezifisch und durch alle möglichen Agentien reproduzierbar. Zur Charakterisierung der Anaphylaxie bleibt demnach vorderhand eigentlich nur die Charakterisierung der Bedingungen ihres Zustandekommens. Diese Bedingungen sind eng umschrieben; sie sind so eigenartig, daß es a priori gar nicht verständlich ist, wie ohne gewichtige Gründe die Erscheinungen des anaphylaktischen Experiments auf weiter entfernt liegende Gebiete biologischen Wissens übertragen werden konnten. Bemerkenswert ist es, daß diese Uebertragungen nicht auf Tatsachen, sondern auf Theorieen fußen, die, so geistvoll sie sein mögen, nicht selten die in wissenschaftlichen Dingen notwendige Vorsicht vermissen lassen. Vor allem war es Friedberger, der das ganze Tatsachenmaterial über Anaphylaxie, das zu einem sehr großen Teile ihm selbst zu danken ist, unter den einheitlichen Gesichtspunkt des parenteralen Eiweißabbaues brachte und von hier aus zahlreiche Giftwirkungen, an deren anaphylaktische Natur bisher niemand gedacht hatte, einer einheitlichen Erklärung zuführen wollte.

Voraussetzung für diese Auffassung war zunächst, daß bei der Anaphylaxie ein Eiweißabbaustoff von stärkster Giftigkeit entstünde. Ein derartiges Abbauprodukt ist im klassischen anaphylaktischen Ex-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 14:55 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

periment direkt bisher nicht nachgewiesen worden (vgl. die Zusammenstellung von Dörr in Kolle-Wassermanns Handb. d. pathog. Mikroorganismen. 2. Aufl.). Der Mangel dieses Nachweises schließt natürlich nicht das Auftreten eines derartigen Giftes aus. Friedberger glaubt nun, daß es ihm gelungen sei, das supponierte Gift in vitro darzustellen. Es kann nicht geleugnet werden, daß dieses Gift, das „Anaphylatoxin", toxikologisch allen Ansprüchen gerecht wird; gegenteilige Auffassungen konnte Friedberger widerlegen. Die toxikologische Identität genügt aber, wie wir sahen, zum Beweise nicht, weil ja die Erscheinungsformen der Anaphylaxie unspezifisch sind. Das gibt auch Friedberger zu; und er stützt sich bei seiner Behauptung von der Wesensgleichheit der beiden Giftwirkungen in vivo und in vitro nicht so sehr auf die Uebereinstimmung der Symptome als auf die Gleichheit der Entstehungsbedingungen, darauf, „daß sich das Anaphylatoxin aus den gleichen Komponenten, den gleichen Mengen und unter den gleichen Bedingungen bildet, die bei der Anaphylaxie eine Rolle spielen" [1]).

Diese Behauptung erscheint uns durchaus unbewiesen. Folgen wir den Theorieen Friedbergers, so entsteht das Anaphylatoxin durch Aufeinanderwirken von Eiweißantigen, Ambozeptor und Komplement, denjenigen Komponenten, die auch für die Giftwirkung im eigentlichen anaphylaktischen Experiment maßgebend sein sollen. Am besten scheint uns noch die Beteiligung des Komplements an der Giftbildung in vivo und in vitro gestützt zu sein, namentlich wenn wir mit Friedberger unter Komplement die Gesamtfunktion des frischen Serums verstehen, die die Fähigkeit hat, einen Ambozeptor zu komplettieren, und die bei 56° C verschwindet. Im anaphylaktischen Shock tritt nach Friedberger regelmäßig ein Komplementschwund ein, und daß dieser Schwund nicht als rein sekundäres Phänomen aufzufassen ist, hat Friedberger bis zu einem gewissen Grade wahrscheinlich gemacht. Tatsachen, welche gegen die Bedeutung des Komplements für die Giftentstehung in vivo sprechen, sind bisher nicht bekannt geworden. Tatsächlich notwendig ist das Komplement oder vielmehr frisches aktives Serum bei der Darstellung des Reagensglasgiftes. Wir können aus eigener Erfahrung bestätigen, daß ein prompt wirkendes Anaphylatoxin, das wir mit (sensibilisierten) Typhusbacillen und frischem Meerschweinchenserum unter bestimmten Versuchsbedingungen ausnahmslos, in 100 Proz., gewinnen konnten, mit inaktiviertem Serum nicht herstellbar ist. Damit ist freilich noch nicht bewiesen, daß es gerade das „Komplement" ist, welches für die Giftentstehung in vitro verantwortlich ist. Die Zweifel an der Bedeutung des Komplements, die bereits mehrfach geäußert wurden, müssen um so berechtigter erscheinen, je fraglicher — wie wir sogleich sehen werden — die Bedeutung des Ambozeptors ist.

Wie steht es ferner aber mit dem Antigen? Hier ist bereits ein gewisser Mangel an Kongruenz zwischen Versuch in vivo und in vitro unleugbar. Das Anaphylatoxin ist nicht am leichtesten darstellbar aus denjenigen Antigenen, mit denen in vivo das anaphylaktische Experiment am leichtesten demonstrabel ist; im Gegenteil, es ist aus allen möglichen Substanzen zu gewinnen, deren antigene Eigenschaften zum mindesten

1) Friedberger, E., Kritik des gegenwärtigen Standes der Anschauungen über Anaphylaxie und Anaphylatoxinvergiftung. (Zeitschr. f. Immunitätsforsch. Bd. 18. 1913. p. 227.)

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 14:55 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

recht fraglich sind, z. B. aus gekochtem Serumeiweiß, aus dem bemerkenswerterweise die Darstellung besonders leicht gelingt. In jüngster Zeit wurde das Anaphylatoxin auch aus Agar und neuerdings sogar aus Stärke [Nathan[1])] hergestellt. Bei der Stärke namentlich ist die Eiweißbeimengung der zum Versuch notwendigen Menge so minimal, daß es doch zweifelhaft erscheint, ob die Giftentstehung wirklich an die Stärkeeiweißspuren gebunden ist. Für diese Auffassung spricht allerdings, daß eigene Versuche mit einem Polysaccharidpräparat, dem Inulin (N-frei, E. Merck), bisher negative Resultate zeitigten.

Ganz ungenügend aber scheint uns die Beteiligung des Ambozeptors bei der Anaphylatoxinentstehung fundiert zu sein. Tatsächlich geht — wenigstens in sehr vielen Fällen — die Darstellung des Anaphylatoxins genau so gut ohne wie mit Antikörper vor sich. Die Beteiligung des spezifischen Antikörpers an der Entstehung des anaphylaktischen Giftes ist aber zweifellos das wichtigste und zuverlässigste Kriterium für die Gleichheit der Bedingungen in vivo und in vitro, denn die anaphylaktische Reaktion im Tier ist charakterisiert durch ihre Spezifität, durch die Beteiligung spezifischer Immunkörper. Da das Reagensglas-Anaphylatoxin ohne Zusatz von Antikörpern herstellbar ist, griff Friedberger zu der Annahme, daß die Entstehung des Anaphylatoxins im Reagensglase auf der Anwesenheit von Normalambozeptoren (des als Komplement benutzten Meerschweinchenserums) beruhe. Zunächst ist diese Auffassung nicht unbestritten; Moreschi und Vallardi[2]) wollen sie experimentell widerlegt haben, während Friedberger[3]) hinwiederum gegen die Versuchsanordnung dieser Autoren Bedenken erhebt. Gleichviel aber auch, wie dieser Streit entschieden werden mag, er trifft gar nicht den eigentlichen Kernpunkt der ganzen Frage; die Frage ist die: läßt sich in vitro eine Wirksamkeit zugesetzter Immunambozeptoren erkennen, sei es im Sinne einer verstärkten oder beschleunigten Giftbildung, läßt sich mit anderen Worten in vitro ein „anaphylaktischer Index" feststellen?

Ueber diese Kardinalfrage geht Friedberger[3]) in einer seiner letzten Publikationen mit folgendem Satze hinweg:

„Die von Friedberger und Vallardi[4])[5]) zuerst bewiesene, auch von Pfeiffer und Bessau[6]) auf Grund ihrer Versuche angenommene Doppelfunktion des Ambozeptors, d. h. die Beteiligung bei der Giftbildung und der späteren Entgiftung, ist neuerdings auch vollkommen von Sata[7])[8]) bestätigt worden."

1) Nathan, E., Ueber Anaphylatoxinbildung durch Stärke. (Zeitschr. f. Immunitätsforsch. Bd. 18. 1913. p. 636.)

2) Moreschi u. Vallardi, Ueber die Wirkung der Normal- und Immunantikörper bei der Anaphylatoxinbildung im Reagensglase. (Zeitschr. f. Immunitätsforsch. Bd. 11. 1911. p. 31.)

3) Friedberger, E., l. c.

4) Friedberger, E., Ueber das Anaphylatoxin und die Anaphylaxie erzeugende Wirkung von antikörperhaltigen Seris. (Med. Klinik. 1910. p. 510.)

5) Friedberger, E. u. Vallardi, Die quantitativen Beziehungen bei der Anaphylatoxinbildung. (Zeitschr. f. Immunitätsforsch. Bd. 7. 1910. p. 94.)

6) Pfeiffer, R. u. Bessau, Zur Frage der Antiendotoxine bei Typhus abdominalis. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 56. 1910. p. 344.)

7) Sata, A., Untersuchungen über die spezifischen Wirkungen des Tuberkuloseserums durch Anaphylatoxinversuche. (Zeitschr. f. Immunitätsforsch. Bd. 17. 1913. p. 75.)

8) Sata, A., Untersuchungen über die spezifischen Wirkungen des Tuberkuloseserums durch Mischungsversuche von Tuberkulin und Tuberkuloseserum. (Zeitschr. f. Immunitätsforsch. Bd. 17. 1913. p. 84.)

Generated on 2019-09-15 14:55 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Hierzu wollen wir zunächst bemerken, daß die beim Lesen dieser Zeilen vielleicht entstehende Annahme, als ob die Untersuchungen von R. Pfeiffer und mir gleichsam eine Nachprüfung der Angaben Friedbergers seien, durchaus irrtümlich wäre. Unsere Untersuchungen sind vollständig unabhängig von denen Friedbergers entstanden; R. Pfeiffer trug ihre Resultate auf dem Mikrobiologentage Pfingsten 1910 vor, also vor dem Erscheinen der Arbeit von Friedberger und Vallardi und kurze Zeit nach der — uns damals übrigens unbekannt gebliebenen — Publikation Friedbergers in der „Med. Klinik". Im übrigen kommen Prioritätsfragen unseres Erachtens überhaupt nicht in Frage, weil es sich bei den Untersuchungen Friedbergers und den eigenen um grundverschiedene Dinge handelt, gegen deren Analogisierung Front zu machen uns dringend notwendig erscheint.

Bleiben wir zunächst bei den Versuchen Friedbergers, die sich mit der Rolle des Ambozeptors bei der Darstellung des Reagensglasanaphylatoxins befassen. Friedberger schreibt ihm eine Doppelfunktion zu: 1) Er soll das ungiftige native Eiweiß zu toxischen Zwischenprodukten abbauen, 2) er soll die toxischen Zwischenprodukte bis zu ungiftigen Spaltprodukten weiter zerlegen.

Ad 1: Die Versuche Friedbergers und Vallardis sind sicher nicht imstande, in der Frage nach der Bedeutung des Immunkörpers für die Darstellung des Reagensglasanaphylatoxins eine Entscheidung herbeizuführen. Diese Versuche erstrecken sich auf die Darstellung des Giftes aus Hammelserum, Blutkörperchenschatten und roten Blutkörperchen. Die größte Bedeutung dürfte den Versuchen mit Hammelserum zukommen, da Hammelserum ein für das anaphylaktische Experiment in vivo hervorragend geeignetes Antigen repräsentiert. Betrachten wir das Ergebnis: Von den 7 Tieren, die zum Versuch gelangten, blieben die beiden Meerschweinchen, welche das mit der geringsten Antikörperdosis hergestellte Gift erhalten hatten, am Leben. Nun steht mit der Antikörperdosis die Größe der Präzipitate, aus denen das Gift hergestellt wurde, in Beziehung; bei den kleinsten Antikörperdosen war auch die Präzipitatmenge relativ klein. Nach Friedberger soll allerdings die Giftentstehung nicht direkt von der Präzipitatmenge abhängig sein; es kann aber wohl keinem Zweifel unterliegen, daß eine untere Grenze besteht, d. h. daß eine gewisse Präzipitatdosis zur Bildung einer reichlichen Giftmenge notwendig ist. Wir vermuten deshalb, daß nicht die geringe Antikörperdosis, sondern die geringe Präzipitatmenge für das Ausbleiben bzw. die Abschwächung der Giftbildung verantwortlich ist.

Diese Auffassung ist durchaus wahrscheinlich, wenn wir die Zusammenstellung der Versuchsprotokolle der Friedberger-Vallardischen Arbeit (p. 121) näher betrachten. Die 7 Versuchstiere stellen 2 Versuchsreihen dar; die erste umfaßt 4, die zweite 3 Meerschweinchen. In beiden Fällen blieben diejenigen Tiere am Leben, welchen das mit der größten Präzipitatmenge hergestellte Anaphylatoxin injiziert wurde, eine Tatsache, die an dieser Stelle nicht interessiert und weiter unten besprochen werden wird. In der ersten Versuchsreihe blieb ferner dasjenige Tier am Leben, welches das aus der kleinsten Präzipitatmenge gewonnene Anaphylatoxin erhalten hatte. In der zweiten Versuchsreihe scheint nach den Protokollzeichen die verwandte Präzipitatmenge bei 2 Versuchen gleich groß gewesen zu sein, und hier starb nach der zitierten Zusammenstellung nur dasjenige Tier, bei dem die zur Herstellung des Anaphylatoxins verwandte Präzipitatmenge mit der größeren Antikörpermenge gewonnen war. Dies könnte tatsächlich für die Bedeutung des Antikörpers und gegen die Bedeutung der Präzipitatmenge sprechen. Sehen wir uns aber die Versuchsprotokolle im einzelnen an (p. 115), so zeigt sich, daß beide Tiere chronisch gestorben sind, daß nur die Zeit bis zum Eintritt des Todes in beiden Fällen nicht ganz gleich war, Differenzen, die gegen-

Generated on 2019-09-15 14:55 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

über der verschiedenen individuellen Giftempfindlichkeit des Meerschweinchens völlig belanglos sind.

Unsere Behauptung, daß die Versuche von Friedberger und Vallardi über die Herstellung des Anaphylatoxins aus Hammelserumpräzipitat die Bedeutung des Antikörpers für die Giftentstehung nicht beweisen, wird weiter gestützt durch spätere Versuche von Friedberger selbst, durch die uns die Friedberger-Vallardische Arbeit überholt erscheint. Friedberger konnte nämlich in Gemeinschaft mit Nathan[1]) zeigen, daß das Anaphylatoxin aus viel geringeren Dosen Pferdeserum, als er sie bei den besprochenen Versuchen mit Hammelserum verwandte, ohne Intervention spezifischer Antikörper entsteht. Also gerade bei den klassischen anaphylaktischen Antigenen, den Seris, ist die Bedeutung der spezifischen Antikörper für die Entstehung des Reagensglasanaphylatoxins noch durchaus ungeklärt. Es ist dies eine Lücke in der experimentellen Fundierung des Friedbergerschen Ideengebäudes, die höchst auffällig ist und die nicht scharf genug betont werden kann.

Hinsichtlich der sonstigen Versuche Friedbergers und Vallardis über die Rolle des Antikörpers im Friedbergerschen Reagensglasversuch ist zu bemerken, daß in den Reihen, in denen das Gift aus Blutkörperchenschatten hergestellt wurde, von 8 Meerschweinchen nur ein einziges Tier akut gestorben ist, und daß ferner in den Reihen, in denen das Gift aus Blutkörperchen dargestellt wurde, zwar ein Einfluß des Antikörpers offensichtlich ist, immerhin gerade in diesen Reihen nach Friedberger selbst gewisse Abweichungen gegenüber den sonstigen Erfahrungen zutage treten, so daß hier mit der Möglichkeit besonderer Verhältnisse gerechnet werden muß.

Friedbergers eigene Versuche beweisen also nicht, was er beweisen will. Wie steht es mit denen Satas, auf die sich — außer den unsrigen — Friedberger beruft?

Sata[2]) beschäftigte sich mit der Anaphylatoxingewinnung aus Tuberkelbacillen. Gerade für das Bakterienanaphylatoxin erscheint uns die Bedeutung des Antikörpers besonders fragwürdig. Hier nehmen ja auch die meisten Autoren an, daß die Darstellung mit oder ohne Zusatz spezifischen Immunserums in gleicher Weise gelingt. Die Versuche Satas, auf die Friedberger verweist, erscheinen uns nun in der Tat sehr wenig beweiskräftig. Wir wundern uns eigentlich, daß Friedberger sie ins Feld führt, denn Sata konnte aus Tuberkelbacillen ein akut tötendes Anaphylatoxin auch mit inaktiviertem Komplement darstellen. Sata selbst findet das „merkwürdig"; wir möchten — wohl im Einverständnis mit Friedberger — annehmen, daß es höchst fraglich ist, ob Sata überhaupt ein Anaphylatoxin im Sinne Friedbergers dargestellt hat. Der Einfluß des Tuberkelbacillenimmunserums machte sich dahin geltend, daß nicht eine bessere, sondern im Gegenteil eine schlechtere Giftausbeute erzielt wurde, eine Tatsache, die Sata im Sinne Friedbergers als einen über die Giftstufe hinausgehenden Abbau deutet. Auf diese Frage kommen wir sofort zurück. In einer weiteren Arbeit hat dann Sata[3]) auch aus einem Gemisch von Tuberkulin bzw. Tuberkelbacillenpulver mit Tuberkuloseserum das Gift dar-

1) Friedberger, E. u. Nathan, Die Anaphylatoxinbildungen aus Eiweiß im Reagensglas durch normale Sera. (Zeitschr. f. Immunitätsforsch. Bd. 9. 1911. p. 567.)
2) l. c.
3) l. c.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 14:55 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

gestellt, während der Versuch bei Verwendung von Normalserum nicht in gleicher Weise gelang. Das Gift entstand aber auch hier wieder ohne Komplement, die verwandten Sera waren, wie ausdrücklich betont wird, inaktiviert. Selbst das Komplement der zur Giftauswertung der Reagensglasgemische benützten Meerschweinchen, durch welches vielleicht erst in vivo das Gift entstanden sein könnte, scheidet für die Deutung dieser Versuche Satas[1]) aus; denn die Gemische von Tuberkulin bzw. Tuberkelbacillenpulver und Tuberkuloseserum (ohne Komplement) waren meist nicht bald nach ihrer Herstellung giftig, sondern zeigten eine im Zeitraum von 24 Stunden bis 5 Tagen (!) allmählich zunehmende (und später wieder abnehmende) Giftigkeit. Was hier im Reagensglas vorgegangen ist, ist durchaus rätselhaft; jedenfalls kann man nicht ohne weiteres von einem Abbauprozeß mit Giftabspaltung und Giftzerstörung im Sinne Friedbergers sprechen.

Ad 2: Kann der spezifische anaphylaktische Antikörper die toxischen Zwischenprodukte zu ungiftigen Stufen weiter abbauen? Diese Frage halten wir für gänzlich problematisch. Friedberger stützt sich hier lediglich auf Reagensglasversuche und scheint dabei völlig außer acht zu lassen, daß ein derartiger Abbau in vivo bisher von niemandem auch nur wahrscheinlich gemacht worden ist. Präpariert man ein Tier aktiv, so wird es um so stärker anaphylaktisch, je mehr Antikörper es bildet; noch nie hat sich ein Ueberschuß von Antikörpern in vivo als ein Schutz gegenüber dem Anaphylaktogen erwiesen. Ehe nicht gezeigt ist, daß von einem gewissen Werte ab ein weiteres Steigen des Antieiweißkörpergehaltes mit einem Sinken der Ueberempfindlichkeit einhergeht, so lange glauben wir die in vitro erhaltenen Resultate Friedbergers als „Reagensglasphänomen" deuten zu müssen. Im Reagensglas wirkt ja auch ein Ueberschuß von Antigen hemmend auf die Giftbildung ein, während im Tierkörper eine derartige Hemmungszone unbekannt ist. Wir finden darin nichts Auffallendes; was aber berechtigt Friedberger bei dem Ueberschuß von Antikörpern anderes anzunehmen als bei dem Ueberschuß von Antigen?

Wir kommen somit zu dem Schlusse, daß weder von Friedberger noch von Sata die Bedeutung des Antikörpers für die Entstehung des Anaphylatoxins erwiesen ist. Damit fällt Friedbergers einziges Argument für die von ihm vertretene Auffassung, daß das „Anaphylatoxin" mit der im anaphylaktischen Versuch zutage tretenden Giftwirkung identisch sei. Diese Identifizierung gründet ja Friedberger selbst nur auf die Gleichheit der Bedingungen für die Giftentstehung.

Uebrigens möchten wir mit dieser Feststellung keineswegs die Möglichkeit ablehnen, daß das Friedbergersche Anaphylatoxin mit der Giftwirkung in vivo identisch oder nahe verwandt ist. Es ist das nur zunächst eine reine Hypothese. Die einzige Stütze für sie sind unseres Erachtens die Beziehungen des Anaphylatoxins zur Antianaphylaxie, Beziehungen, die allerdings Friedberger selbst ablehnt[2]). Stellt man

1) Diese Deutung hat an sich wenig für sich. Würde erst durch das Komplement der zur Giftauswertung benützten Meerschweinchen Anaphylatoxin entstehen können, dann wäre ja doch der Komplementzusatz in vitro entbehrlich. Gerade diejenigen Autoren, die zur Anaphylatoxindarstellung aktives Komplement im Reagensglasgemisch für notwendig halten, dürften sich nicht in Fällen, wo ein Reagensglasgemisch ohne Komplementzusatz anaphylaktische Erscheinungen auslöst, auf das Komplement der zur Giftbestimmung dienenden Tiere berufen.

2) Ich werde demnächst zu dieser Frage eingehendere Mitteilungen machen.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 14:55 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

sich aber auf den Friedbergerschen Standpunkt, daß das Reagensglas-anaphylatoxin mit der Noxe im Tierkörper identisch ist, so müßten vielleicht unsere Vorstellungen über die Genese der Anaphylaxie im Tierexperiment von Grund aus revidiert werden, jedenfalls würde möglicherweise dem spezifischen Immunkörper, dessen Einfluß im Friedbergerschen Reagensglasversuch mehr als zweifelhaft ist, in vivo eine andere Rolle zufallen, als bisher angenommen wird. Das ist Sache weiterer Forschung.

Friedberger stützt sich bei seinen Behauptungen über die Doppelfunktion des Ambozeptors nun auch auf Versuche von R. Pfeiffer und mir über den Abbau des Typhusendotoxins. Diese Analogisierung erscheint uns unangebracht. Friedberger hat zweifellos ein Recht bei unseren Versuchen von einer Doppelfunktion des Ambozeptors zu sprechen: wir haben nachgewiesen (und zwar im Tierexperiment!), daß der bakteriolytische Immunkörper mit Hilfe des Komplements das Endotoxin zu ungiftigen Spaltprodukten abbaut, und wir haben auch mit der Möglichkeit gerechnet, daß die Giftstufe selbst, das Endotoxin, erst durch den spezifischen Abbau gebildet wird. Bei dieser Auffassung der Giftentstehung handelt es sich aber nur um eine Möglichkeit, die nicht bewiesen ist, und wir halten — entsprechend der ursprünglichen Pfeifferschen Annahme — es ebensogut für möglich, daß das Endotoxin präformiert im Bacillenleibe enthalten ist. Diese Frage, die von rein theoretischem Interesse ist, kann mit Sicherheit nicht entschieden werden. Daß es gelegentlich in outrierten Tierexperimenten gelingt, sehr große Dosen lebender Typhuskultur durch Zusatz von Typhusimmunserum toxischer zu machen, braucht nicht im Sinne eines Abbaues gedeutet zu werden, sondern kann auch der Ausdruck des plötzlichen Freiwerdens großer, nicht sogleich weiter zerlegbarer Endotoxindosen bei der Bacillenauflösung sein. Bemerkenswert ist jedenfalls, daß es uns nicht gesetzmäßig gelang, abgetötete Typhuskultur durch Zusatz kleiner Mengen Immunserums toxischer zu machen (nicht veröffentlichte Versuche). An der Beteiligung des Ambozeptors bei der Giftentstehung in dem Sinne, daß er aus ungiftigem Bakterieneiweiß erst die Giftstufe abbaut, hegen wir somit Zweifel. Halten wir uns an tierexperimentell belegte Tatsachen, so können wir nur von einem Abbau des Endotoxins durch Ambozeptor und Komplement sprechen.

Die Uebertragung der Versuche von R. Pfeiffer und mir auf den Friedbergerschen Reagenzglasversuch der Anaphylatoxinentstehung und -zerstörung halten wir aber deswegen für völlig unzulässig, weil Friedberger jeden Beweis dafür schuldig ist, daß das Endotoxin irgendetwas mit dem Anaphylatoxin zu tun hat. Das Anaphylatoxin, dessen Beziehungen zur Anaphylaxie noch nicht einmal klargestellt sind, soll nach Friedberger das bakterielle Gift darstellen und so ziemlich alle Erscheinungen bei den meisten Infektionskrankheiten erklären. R. Pfeiffer hat bereits auf dem Naturforschertage in Königsberg 1910, wo Friedberger seine Gedankengänge vortrug, schwerwiegende Bedenken geäußert. Die verschiedenen Endotoxine wirken qualitativ zu verschieden, als daß ein einheitliches Giftprinzip im Sinne des Anaphylatoxins in Frage kommen könnte. Ich[1]) habe wohl als erster die Frage experimentell in Angriff genommen. Ich fand, daß der Zustand

1) Bessau, G., Ueber die Differenzierung bakterieller Gifte. (München. med. Wochenschr. 1912. No. 15.)

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 14:55 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

der Antianaphylaxie eine Differenzierung zwischen Anaphylatoxin und Endotoxin ermöglicht, ja ich konnte das von mir vorgeschlagene Prinzip, den Reaktionszustand des Organismus zur Differenzierung bakterieller Giftwirkungen zu benützen, auch auf die menschlichen Infektionskrankheiten übertragen, so daß wir heute mit ziemlicher Bestimmtheit aussagen können, wie weit anaphylaktische Giftwirkungen bei menschlichen Infektionskrankheiten tatsächlich in Betracht kommen. Ich werde demnächst in ausführlichen Arbeiten auf diese Frage zurückkommen, so daß sich eine nähere Erörterung an dieser Stelle erübrigt.

Mit der Differenzierung von Endotoxin und Anaphylatoxin erscheint uns jede Vergleichsmöglichkeit der Friedbergerschen und unserer eigenen Versuche über die „Doppelfunktion des Ambozeptors" aufgehoben. Friedberger hat von einer Doppelfunktion des Ambozeptors nichts bewiesen; wir haben bewiesen, daß bakteriolytisches Immunserum in vivo Endotoxine abbaut.

Die Annahme der ausschließlichen Bedeutung des anaphylaktischen Giftes für die toxischen Vorgänge bei den Infektionskrankheiten erscheint uns unkritisch; nur durch Experimente kann diese Frage weiterer Klärung zugeführt werden.

Nachdruck verboten

Ueber polyvalente Typhussera mit Beziehung zur Agglutination und Bakterizidie in vitro.

[Aus dem Hygienischen Institut der Universität Rostock (Direktor: Geheimrat Prof. Dr. Pfeiffer).]

Von Stabsarzt Dr. **Donges,** kommandiert zum Institut.

Mit der Herstellung polyvalenter Sera verfolgt man den Zweck, eine allgemeinere Wirkung der Sera zu erzielen, so daß dieselben eine ausgedehntere Wirkungszone besitzen. Denys und Vandevelde haben ein Streptokokkenserum hergestellt mit Kulturen von den klinisch verschiedenen Formen der Streptokokkenkrankheiten (Rose, Sepsis, Pyämie, Zellgewebsentzündung, Bauchfellentzündung) in der Absicht, es gegen alle diese Krankheiten wirksam zu machen; Tavel und Moser haben zur Herstellung ihrer Scharlachsera Stämme von Streptokokken, die aus den verschiedensten Scharlachfällen stammten, genommen; Wassermann und Ostertag haben ein wirksames Schweineseucheserum gewonnen durch Verwendung einer größeren Anzahl Schweineseuchebakterienstämme; zur Feststellung der Zugehörigkeit eines Bakteriums zur Hogcholeragruppe empfiehlt Smidt ein polyvalentes Schweinepestserum; Römer gewinnt ein Pneumokokkenserum zur Behandlung des Ulcus corneae serpens durch Immunisierung mit zahlreichen Pneumokokkenstämmen; die Versuche Rothbergers über Agglutination mit polyvalenten Coli-Sera ergaben keine brauchbaren Resultate; bezüglich der Agglutination hat Kolle einen Unterschied zwischen monovalenten und polyvalenten Typhusseris nicht feststellen können; auch bei Paratyphusbakterien ergaben polyvalente Sera die nämlichen Resultate wie monovalente (Kutscher und Meinicke).

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 14:55 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Bei der Herstellung polyvalenter Sera geht man von dem Gedanken aus, daß die Stämme einer einheitlichen Bakterienart, die bei Infektionen die verschiedensten klinischen Erscheinungsformen erzeugt, untereinander Rasseverschiedenheiten zeigen. Wassermann und Ostertag kamen zu der Ueberzeugung, daß auch die Stämme einer einheitlichen Mikroorganismenart, die klinisch und epidemiologisch stets ein und dasselbe Krankheitsbild hervorruft, trotzdem immunisatorisch verschieden sich verhalten, was bei der Herstellung eines Serums zu berücksichtigen ist.

Durch Ehrlich und Morgenroth wurde festgestellt, daß der hämolytische Ambozeptor sich aus einzelnen Partialambozeptoren zusammensetzt, und daß demgemäß der Ausgangskörper, das Blutkörperchen, aus einzelnen Partialrezeptoren bestehen muß; Wassermann wies das gleiche für die Agglutinine des Bacterium coli nach; Schwoner für die Agglutinine der Diphtherie- oder Pseudodiphtheriebacillen; Wechsberg für den komplexen, aus einzelnen Partialtoxinen bestehenden Bau des Diphtherietoxins; Volk und Lipschütz und Kolle für den differenten biologischen Bau verschiedener Stämme der Staphylokokken; Lipschütz und Walker erwiesen derartige biologische Stammesverschiedenheiten für die Typhusgruppe.

Das Protoplasma der einzelnen Bakterienzellen, gegen die immunisiert wird, stellt nach Wassermann und Ostertag nicht eine gleichmäßige, biologisch einheitliche Masse dar, sondern ist aus verschiedenen kleinsten Einzelteilen zusammengesetzt; jedem dieser Einzelteile entspricht ein Einzelteil, ein Partialteil, in dem entstehenden Serum; durch diese komplexe Struktur ist es gegeben, daß die Zellen ein und derselben Species biologisch nicht vollständig gleichmäßig, sondern etwas verschieden voneinander gebaut sein können. Durch diesen individuell verschiedenen Bau der Zellen ein und derselben Species erklärt sich, daß ein Immunserum, das mit einem einzigen Stamm hergestellt ist, eine sehr ungleichmäßige Wirkung gegenüber einer Reihe von Stämmen anderer Herkunft zeigen kann. Ein monovalentes Serum, das also nur auf die Komponenten eines Stammes abgestimmt ist, hat demnach nur gegen diesen Stamm oder die ihm biologisch und morphologisch vollständig gleichstehenden Schutzwirkung; ein polyvalentes Serum dagegen muß nicht nur gegen die Stämme schützen, mit welchen es hergestellt ist, sondern auch vermöge seines erhöhten Gehaltes an Partialambozeptoren gegen andere.

Wassermann und Ostertag erklären diese Rasseverschiedenheiten durch Annahme eines Trägers der Specieseigentümlichkeit der Bakterienart, des sogenannten dominanten Rezeptors, und einer Reihe von individuell äußerst verschiedenen Nebenrezeptoren; Lipstein nennt sie bei seinen Versuchen mit Diphtheriebacillen Grund- und Partialrezeptoren; Volk und Lipschütz Partialtoxine, von denen gewisse als identisch anzunehmen seien; Lipschütz nimmt für die Agglutinine der Typhusgruppe Haupt- und Nebenagglutinine an. Die einzelnen Bakterienarten verhalten sich in bezug auf Einheitlichkeit des Bakterienprotoplasmas und Identität der Rezeptoren verschieden. Kolle und seine Mitarbeiter fanden den Choleravibrio am einheitlichsten zusammengesetzt; weniger gleichmäßig ist der Bau der Typhus- und Diphtheriegruppe; am meisten verschieden ist er bei den Gruppen der Coli-Arten, Streptokokken, Schweineseuche.

Kolle hat, wie erwähnt, mit hochwertigen mono- und polyvalenten Typhusseris, die mit zahlreichen leicht und schwer agglutinablen Typhusstämmen hergestellt waren, keine Unterschiede bezüglich der Agglutination

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 14:55 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

festgestellt. In den folgenden Versuchen sollte geprüft werden, ob bei Herstellung möglichst niedrigwertiger Typhussera mit möglichst kleinen Immunisierungsdosen von Typhusbacillen ein Unterschied zwischen mono- und polyvalenten Sera bezüglich Agglutination und Bakterizidie in vitro zu konstatieren sei.

Es lag der Gedanke zugrunde, daß bei Injektion von großen Bakteriendosen die feinen biologischen Unterschiede der einzelnen verwendeten Typhusstämme in dem entstehenden Serum sich leichter verwischen können als bei minimalen Injektionsdosen, insofern als auf die Fähigkeit des Organismus, auf die einzelnen verwendeten Typhusstämme spezifische Antikörper im Serum zu bilden, durch zu große Anfangsdosen eines ersten und auch zweiten Typhusstammes gleich ein zu großer Reiz ausgeübt wird, so daß auf die später injizierten Stämme der Körper nicht mehr in dem Maße wie anfangs mit ebenso großer und starker Bildung von spezifischen Antikörpern im Serum reagiert. Man kann sich vorstellen, daß die größeren Mengen von Rezeptoren des zuerst in zu großer Menge injizierten Typhusstammes in ihrer Ueberzahl die Produktionskraft der die Ambozeptoren liefernden Körperzellen derartig in Anspruch nehmen, daß sie in ihrer Funktionstüchtigkeit geschwächt sind und daher weniger Ambozeptoren für die später injizierten Stämme zu liefern vermögen; die Fähigkeit des Serums, auf eingeführte Antigene mit spezifischer Antikörperbildung zu antworten, ist sicherlich nicht unbegrenzt und kann durch zu große Immunisierungsdosen erschöpft werden. Will man feine Unterschiede einer Reaktionsäußerung des Organismus und geringe Differenzen in der Ambozeptorbildung herausfinden, so dürfen nur geringe Immunisierungsdosen verwendet werden. Die Injektionsdosen müssen an der Grenze der Mengen liegen, die gerade noch zur immunisatorischen Wirkung ausreichen und als Antigene zur Bildung von Antikörpern genügen, die gerade noch fähig sind, die Bildung von Antikörpern anzuregen und auszulösen. Die Artverschiedenheiten der einzelnen Typhusstämme bestehen nach den vorausgegangenen Erörterungen in dem verschiedenen Bau des Bakterienprotoplasmas, das sich beim Typhusbacillus in wenig verschiedener Einheitlichkeit zusammensetzt; diese geringen Artverschiedenheiten der Typhusstämme werden als geringe Antigenverschiedenheiten auch nur geringe Unterschiede in der Antikörperzusammensetzung im Serum bewirken. Unterschiede werden nur auftreten, wenn in dem entstehenden Serum keine auf einen bestimmten Typhusstamm mit seinem spezifischen Bau des Bakterienprotoplasmas spezifisch eingestellte Ambozeptoren vorherrschen und in der überwiegenden Mehrzahl vorhanden sind, sondern wenn nur gerade eine geringe, aber ziemlich gleiche Menge von auf die einzelnen Artverschiedenheiten der einzelnen verwendeten Typhusstämme spezifisch eingestellten Antikörpern vorhanden ist, die, nach der Theorie von Wassermann und Ostertag, als die einzelnen Partialteile, die auf die einzelnen verwendeten Typhusstämme zurückzuführen sind und diesen ihre Entstehung verdanken, in etwa gleich großer Zahl in dem Serum nebeneinander existieren.

Ein solches polyvalentes Serum, in dem diese feinen Unterschiede bestehen und zur Wirkung kommen können, muß infolge seiner Zusammensetzung aus vielen Partialantikörpern eine allgemeinere Wirkung zeigen, weil vermöge seiner Vielseitigkeit der Partialantikörper die Möglichkeit eine größere ist, daß es in den Typhusstämmen, mit denen es zusammengebracht wird, analoge und gleichartige Komponenten findet.

Generated on 2019-09-15 14:55 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Pfeiffer faßt die Antikörperproduktion „als eine spezifische Reaktion auf einen spezifischen Reiz“ auf, und erklärt so „das Mißverhältnis zwischen Ursache und Wirkung, wenn minimale Vaccindosen unter Umständen geradezu eine Ueberschwemmung des Organismus durch neugebildete Immunkörper herbeiführen“; Friedberger und Moreschi nehmen nach dieser Reizhypothese auf Grund der Versuchsresultate bei ihren Untersuchungen über aktive Immunisierung von Kaninchen gegen Cholera und Typhus an, daß $^1/_{500}$ Oese Cholera- oder Typhusbakterien pro Kilogramm Tier das Optimum des Reizes darstellt; daß durch Impfstoffdosen, die über das Optimum hinausgehen, eine Schädigung des Organismus stattfinden kann, die zu einer Verminderung der Antikörperproduktion führen kann; daß, nach der Ehrlichschen Seitenkettentheorie, in $^1/_{500}$ Oese Cholera- oder Typhusbakterien so viel Rezeptoren vorhanden sind, als mit passenden Rezeptoren der Zellen des Organismus überhaupt in Aktion zu treten vermögen, und daß ein Mehr von eingeführten Bakterienrezeptoren vom Standpunkte der Antikörperproduktion als ein unnötiger Ballast im Körper zirkuliert, der unter Umständen durch Verankerung eines Teiles der neugebildeten Ambozeptoren die nachweisbare Menge der Ambozeptoren im Serum herabsetzt; sie erzielten durch Verimpfung von bei 60° abgetöteten Cholera- und Typhusbakterien in Dosen, die Bruchteile von $^1/_{100}$ Oese betrugen, regelmäßig hohe bakterizide Titer und hohe Agglutinationswerte (bakterizider Titer von 0,0001—0,0005, Agglutinationstiter von 640 gegen 20 vor der Immunisierung; Friedberger erzielte nach intravenöser Injektion von $^1/_{1000}$ Oese Choleravibrionen einen bakteriziden Titer von durchschnittlich 3 mg). Ich habe, da es nicht darauf ankam, hohe Titer zu erzielen, als Injektionsdosis $^1/_{1000}$ Oese Typhusbakterien genommen; es sollte damit, nach der Pfeifferschen Reizhypothese, da ich mehrere Typhusstämme — im ganzen 6 — zur Immunisierung verwendete, nicht von dem oder den zuerst injizierten Stämmen das Optimum des Reizes erreicht, noch überschritten werden, noch sollte eine Abschwächung der Produktionskraft der die Ambozeptoren liefernden Körperzellen herbeigeführt werden. Um ein möglichst gleichmäßiges und gleichartiges Injektionsmaterial zu verwenden, wurden die Typhusbakterien in abgetötetem Zustande (1 Stunde bei 60°) injiziert; es wurden hierdurch Ungenauigkeiten und Unterschiede durch das Lebendsein der Bakterien und vielleicht auch durch die Virulenzschwankungen der Kulturen, ferner auch die individuellen Schwankungen des Verhaltens der Tiere ausgeschaltet. Der Einfluß der Unterschiede in den Mengen der injizierten Typhusbakterien wurde dadurch vermieden, daß stets die gleiche Menge ($^1/_{1000}$ Oese) injiziert wurde. Die Typhusstämme — im ganzen 12, davon 6 zur Immunisierung verwendet — waren von ganz verschiedener Herkunft, dagegen zeitlich innerhalb kurzer Zeit aus zu Untersuchungen eingesandtem Material (Blut, Stühle) gewonnen, so daß ein ungefähr gleiches Alter bezüglich Fortzüchtung auf künstlichen Nährböden (Agar) bestand; die Stämme wurden gleichmäßig und gleichzeitig oft abgeimpft und öfters auf Kontrollnährböden und agglutinatorisch auf Reinheit geprüft; es waren nach den Untersuchungen mit einem hochwertigen Immunserum schwer und leicht agglutinable Stämme. Die Versuchstiere (Kaninchen) waren von nahezu gleichem Gewicht; aus Mangel an Tieren wurden die bakteriziden Versuche mittels des Plattenverfahrens gemacht, und nicht der genauere Pfeiffersche Tierversuch; in Vorversuchen wurden die Normalsera der Tiere auf Agglutination und Bakterizidie gegen die

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 14:55 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

12 Typhusstämme ausgewertet, durchschnittlich Agglutinationstiter von 1 : 10 + und 1 : 20 +, bakterizider Wert überhaupt keine Wirkung oder nur ganz geringe bei 1,0 Serum. Die monovalenten Sera wurden mit Stamm α dargestellt, die polyvalenten Sera mit den Stämmen α, β, γ, δ, ε, ζ.

Die Versuchsanordnung bestand darin, daß ich zur Vergleichung prüfte eine Immunisierung mit einem und mit 6 verschiedenen Typhusstämmen durch 6 Injektionen auf 6 Wochen Dauer verteilt (alle 8 Tage eine Injektion) und eine Immunisierung durch eine einmalige Injektion von einem und 6 verschiedenen Typhusstämmen; ein Teil der Tiere wurde intravenös, der andere Teil subkutan injiziert. Die Agglutinationsprüfungen wurden in der üblichen Weise (nach Proescher) angestellt, der bakterizide Reagensglas-Plattenversuch in der von Stern und Korte angegebenen Weise; als Komplement wurde sowohl frisches Kaninchenserum wie frisches Meerschweinchenserum verwendet; die Platten wurden nach 6-stündigem Aufenthalt der Röhrchen im Brutschrank (bei 37°) gegossen und nach 18—20 Stunden beurteilt.

Die Versuchsresultate sind in den Tabellen zusammengestellt. Aus ihnen geht hervor, daß bei Verwendung minimaler Immunisierungsdosen von bei 60° abgetöteten Typhusbacillen in agglutinatorischer Beziehung verhältnismäßig niedrige Titer, in bakterizider Hinsicht nur ganz geringe Titer erzielt wurden; ein Unterschied zwischen mono- und polyvalenter Typhusserumdarstellung war in keinem Falle zu konstatieren; der einzige Unterschied zeigte sich zwischen intravenöser und subkutaner Impfung, insofern als die erzielten Werte bei letzterer allgemein geringer sind; erfahrungsgemäß wirkt die gleiche Dosis von der Blutbahn her stärker als vom subkutanen Gewebe; Versuche von Mertens ergaben, daß durch die intravenöse Injektion ein 20, 30, ja 150mal höherer bakterizider Titer erzielt werden kann als durch die subkutane Injektion.

Die Versuchsergebnisse sprechen für die Annahme, daß die einzelnen Stämme der Typhusgruppe im allgemeinen ziemlich einheitlich und ohne größere Unterschiede zusammengesetzt sind. Selbstverständlich dürfen aus Ergebnissen, die nur mit wenigen Stämmen gewonnen sind, keine Schlüsse auf ein gesetzmäßiges Verhalten aller Kulturen einer Species, wenigstens nur mit großer Vorsicht, gezogen werden; Vorsicht dürfte am Platze sein, da angenommen werden muß, daß auch größere Rassen-

Agglutinationswerte.

	Monovalentes Serum			Polyvalentes Serum		
	Einmalige intravenöse Injektion					
	320	640	1280	320	640	1280
gegen Stamm α	+	±	·	+	±	·
„ „ β	+	±	·	+	+	±
„ „ γ	+	+	±	+	±	·
„ „ δ	+	±	·	+	±	·
„ „ ε	+	±	·	+	±	·
„ „ ζ	+	±	·	+	±	·
„ „ η	+	+	±	+	+	±
„ „ φ	+	±	·	+	±	·
„ „ χ	+	±	·	+	±	·
„ „ λ	+	±	·	+	±	·
„ „ μ	+	+	±	+	±	·
„ „ ν	+	+	·	+	±	·

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 14:56 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

	Monovalentes Serum			Polyvalentes Serum		
	6malige intravenöse Injektion					
	640	1280	2560	640	1280	2560
gegen Stamm α	+	+	±	+	+	±
„ „ β	+	+	±	+	+	±
„ „ γ	+	+	±	+	+	±
„ „ δ	+	±	·	+	+	±
„ „ ε	+	±	·	+	+	±
„ „ ζ	+	+	±	+	+	±
„ „ η	+	+	±	+	±	·
„ „ φ	+	+	±	+	+	±
„ „ κ	+	+	±	+	+	±
„ „ λ	+	+	±	+	+	±
„ „ μ	+	+	±	+	+	±
„ „ ν	+	+	±	+	+	±

	Monovalentes Serum			Polyvalentes Serum		
	6malige subkutane Injektion					
	320	640	1280	320	640	1280
gegen Stamm α	+	+	±	+	+	±
„ „ β	+	+	±	+	+	±
„ „ γ	+	±	·	+	+	±
„ „ δ	+	+	±	+	+	±
„ „ ε	+	+	±	+	±	·
„ „ ζ	+	+	±	+	+	±
„ „ η	+	+	±	+	+	±
„ „ φ	+	+	±	+	±	·
„ „ κ	+	+	±	+	+	±
„ „ λ	+	+	±	+	+	±
„ „ μ	+	±	·	+	+	±
„ „ ν	+	+	±	+	+	±

unterschiede doch wohl einmal vorkommen können, wie sie von verschiedenen Forschern (Friedberger, Moreschi, Besserer, Jaffé, Lipschütz, Walker, Petterson u. a.) in Arbeiten über Rassendifferenzen und über atypische Stämme der Typhusgruppe veröffentlicht sind.

Bakterizide Titer in vitro.

	Monovalentes Serum	Polyvalentes Serum
	Einmalige intravenöse Injektion	
gegen Stamm α	> 0,5	> 0,5
„ „ β	> 0,4	> 0,5
„ „ γ	> 0,5	> 0,5
„ „ δ	> 0,5	> 0,5
„ „ ε	> 0,5	> 0,5
„ „ ζ	> 0,5	> 0,5
„ „ η	> 0,5	> 0,5
„ „ φ	> 0,5	> 0,5
„ „ κ	> 0,5	> 0,5
„ „ λ	> 0,5	> 0,5
„ „ μ	> 0,5	> 0,5
„ „ ν	> 0,5	> 0,5

Generated on 2019-09-15 14:56 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

	Monovalentes Serum	Polyvalentes Serum
6malige intravenöse Injektion		
gegen Stamm α	> 0,4	> 0,4
„ „ β	> 0,4	> 0,5
„ „ γ	> 0,5	> 0,5
„ „ δ	> 0,5	> 0,5
„ „ ε	> 0,4	> 0,5
„ „ ζ	> 0,5	> 0,5
„ „ η	> 0,5	> 0,5
„ „ ϑ	> 0,5	> 0,5
„ „ κ	> 0,5	> 0,5
„ „ λ	> 0,5	> 0,5
„ „ μ	> 0,5	> 0,5
„ „ ν	> 0,5	> 0,5

	Monovalentes Serum	Polyvalentes Serum
6malige subkutane Injektion		
gegen Stamm α	> 0,9	> 0,9
„ „ β	> 0,9	> 0,9
„ „ γ	> 0,9	> 0,9
„ „ δ	> 0,9	> 0,9
„ „ ε	> 0,9	> 0,9
„ „ ζ	> 0,9	> 0,9
„ „ η	> 0,9	> 0,9
„ „ ϑ	> 0,9	> 0,9
„ „ κ	> 0,9	> 0,9
„ „ λ	> 0,9	> 0,9
„ „ μ	> 0,9	> 0,9
„ „ ν	> 0,9	> 0,9

> = noch geringe Andeutung von bakterizider Wirkung.

Zusammenfassung.

Bei Immunisierung von Kaninchen mit niedrigen Dosen von bei 60° abgetöteten Typhusbacillen ist

1) ein Unterschied zwischen mono- und polyvalenten Seris nicht festzustellen, weder in agglutinatorischer noch in bakterizider Hinsicht, sowohl bei intravenöser wie bei subkutaner Impfungsart.

2) Die subkutane Immunisierung liefert durchweg niedrigere Agglutinationswerte als die intravenöse Immunisierung.

3) Bei Anstellung des bakteriziden Plattenversuches ist nur eine geringe Wirkung bei intravenöser Immunisierung festzustellen.

4) Bei subkutaner Immunisierung ist fast gar keine bakterizide Wirkung zu konstatieren.

Literatur.

Lipschütz, Ueber die bakteriologische Diagnose des Typhus abdominalis mit Hilfe des v. Drigalski-Conradischen Nährbodens und der Agglutination. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 35.)

Smidt, Zur Charakterisierung der Hogcholeragruppe. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 38.)

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 14:55 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Petterson, Ueber die Virulenz und die immunisierende Wirkung des Typhusbacillus. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 38.)
Friedberger u. Dorner, Ueber die Hämolysinbildung durch Injektion kleinster Mengen von Blutkörperchen und über den Einfluß des Aderlasses auf die Intensität der Bildung hämolytischer Ambozeptoren beim Kaninchen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 38.)
Friedberger u. Moreschi, Vergleichende Untersuchungen über die aktive Immunisierung von Kaninchen gegen Cholera und Typhus. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 39.)
Rothberger, Ueber Agglutination des Bacterium coli. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 34.)
Wassermann u. Ostertag, Ueber polyvalente (multipartiale) Sera, mit besonderer Berücksichtigung der Immunität gegenüber den Erregern der Schweineseuche. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 47.)
Kolle, Ueber Paratyphus und den Wert der Immunitätsreaktionen für die Erkennung des Paratyphusbacillus. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 52.)
Kutscher u. Meinicke, Vergleichende Untersuchungen über Paratyphus-, Enteritis- und Mäusetyphusbakterien und ihre immunisatorischen Beziehungen. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 52.)
Töpfer u. Jaffé, Untersuchungen über die Beziehungen von Bakterizidie in vitro und im Tierversuch an Typhus- und Paratyphusbacillen mit verschiedenen spezifischen Serumproben. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 52.)
Friedberger, Ueber die Intensität der Choleraambozeptorenbildung beim Kaninchen unter dem Einfluß von Alkoholisierung und der Mischimpfung. (Berlin. klin. Wochenschrift. 1904. No. 10.
Friedberger u. Moreschi, Ueber Rassendifferenzen von Typhusstämmen. (Berlin. klin. Wochenschr. 1905. No. 45.)
Besserer u. Jaffé, Ueber Typhuskulturen, die sich den Immunitätsreaktionen gegenüber atypisch verhalten. (Dtsche med. Wochenschr. 1905. No. 51.)

Nachdruck verboten.

Ueber die Wirkung von Saponin als Zusatz zu Desinfektionsmitteln.

[Aus dem Hygienischen Institut der deutschen Universität in Prag (Vorstand: Prof. O. Bail).]

Von **Karl Rotky,** Assistent am Institut.

Auf Ersuchen der chemischen Fabrik Dr. Volkmar Klopfer (Dresden) hin unternahmen wir es, eine Reihe von Versuchen über die Wirkungsweise von Desinfektionsmitteln, die nach dem von Prof. Freiherr Reinhold v. Walther patentierten Verfahren hergestellt waren, vorzunehmen. Das Verfahren ist dadurch gekennzeichnet, daß man desinfizierend wirkende Substanzen oder deren Lösungen und Suspensionen mit Saponin und anderen saponinähnlichen Benetzungsmitteln versetzt. Nach dem Patentanspruch[1]) soll das Saponin gleich gut anwendbar in neutralen wie auch sauren Flüssigkeiten und übrigens auch in seifenhaltigen und alkalischen Lösungen, wie auch in wässerigen alkoholischen und acetonischen Lösungen sein. Ebenso soll es in Suspensions- und Emulsionsflüssigkeiten, worin es zugleich die Emulsion und Suspension verbessert, benutzbar sein.

Das Saponin, ein aus Pflanzen gewonnenes Glykosid, ist ein schwach gelbliches, im reinen Zustand beinahe weißes, im Wasser leicht lösliches Pulver, wurde uns von der chemischen Fabrik Dr. Klopfer in bereit-

1) Das deutsche Patent trägt die Nummer 268 628.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 14:55 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

willigster Weise zur Verfügung gestellt. Das in den Versuchen verwendete Saponin war teils neutrales Guajakrindensaponin, teils Saponinum depuratum aus Quillaja. — Bemerkenswert ist, daß sich die Lösung sehr rasch durch Bakterienwachstum zersetzt.

Vorauszuschicken ist, daß Saponin an sich keinerlei desinfizierende Wirkung besitzt, sondern, wie wir uns durch Versuche überzeugen konnten, auf die meisten Bakterien wachstumsfördernd wirkt; die desinfektionsfördernde Wirkung wurde auf Grund der enormen Benetzungsfähigkeit des Saponins, die noch in Verdünnungen von 1:25000 nachweisbar sein soll, erwartet. Es handelte sich darum, festzustellen, ob, und wann sich eine derartige Verbesserung der Desinfektionswirkung durch Saponinzusatz beobachten läßt, daher verwendeten wir in unseren Versuchen eine größere Anzahl von Desinfektionsmitteln, unter denen Säuren, Basen, Salze und verschiedene organische Desinfektionsmittel vorkamen.

Da es sich bei der praktischen Anwendung der Desinfektionsmittel in vielen Fällen (wie z. B. bei der Händedesinfektion) um eine Fettbedeckung der zu desinfizierenden Flächen handelt, gingen wir bei unseren Versuchen in der Weise vor, daß wir die zum Versuche benutzten Bakterien in Oel emulgierten und in Eprouvetten mit gleichen Mengen Desinfektionsmittel verteilten, das in einem Falle mit Saponin versetzt war, im anderen als Kontrolle ohne Zusatz angewendet wurde.

Die Technik der Versuche war folgende: Es wurde eine 24-stündige Agarkultur der zur Untersuchung verwendeten Bakterienart in 2 ccm sterilem, destilliertem Wasser aufgeschwemmt. Ein Kubikzentimeter dieser Aufschwemmung wurde in einer sterilen Reibschale mit der gleichen Menge sterilisierten Olivenöls zu einer homogenen Emulsion verrieben, was in der Regel 10—15 Minuten dauerte. Hierauf wurden in 4 Eprouvetten gleiche Mengen des Desinfektionsmittels eingefüllt, und 2 der Proben mit Saponinlösung (1:10 in sterilem, destilliertem Wasser gelöst) versetzt, so daß der Saponingehalt $^1/_{1000}$ der gesamten Flüssigkeitsmenge betrug. Die Oelemulsion wurde mittels einer graduierten Pipette in 2 sterile Reibeschalen zu gleichen Teilen verteilt; die eine Probe mit saponinhaltigem, die andere mit saponinfreiem Desinficiens vermischt und durch Verreiben sowie wiederholtes Aufsaugen mit der Pipette möglichst gleichmäßig emulgiert. Hier zeigte sich bereits die Wirkung des Saponinzusatzes dadurch, daß die Oelemulsion, die sich in der reinen wässerigen Lösung der meisten Desinfektionsmittel nur sehr schwer verteilen läßt, in den mit Saponin versetzten Flüssigkeiten sich außerordentlich leicht fein emulgiert. Die wässerige Bacillenaufschwemmung wurde ebenfalls zu gleichen Teilen in saponinfreiem und saponinhaltigem Desinfektionsmittel verteilt. Die Untersuchung des Ablaufs der Keimabtötung wurde in der Weise vorgenommen, daß in bestimmten Zeitabständen mit einer ausgeglühten Platindrahtöse, die immer gleichweit in die Flüssigkeit eingetaucht wurde, nachdem die Eprouvette gut geschüttelt worden, ein Tropfen entnommen, in 1 ccm sterilem, destilliertem Wasser verteilt und mit Agar zu einer Platte ausgegossen wurde. Wie wir uns durch mehrere Kontrollversuche überzeugen konnten, sind die Versuchsfehler bei diesem Verfahren relativ gering.

Im folgenden seien nun die Resultate der einzelnen Versuche wiedergegeben und einer näheren Betrachtung unterzogen.

A. Anorganische Desinfektionsmittel.

Versuch I.

Als Desinfektionsmittel 1-proz. Salzsäure; je 2 ccm Desinfektionsflüssigkeit.

Probe 1: Salzsäure mit 1-prom. Saponin, Oelemulsion von Staphylokokken.
Probe 2: Salzsäure ohne Zusatz, Oelemulsion von Staphylokokken.
Probe 3: Salzsäure mit 1-prom. Saponin, Wasseraufschwemmung von Staphylokokken.
Probe 4: Salzsäure ohne Zusatz, Wasseraufschwemmung von Staphylokokken.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 14:55 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Keimzahl nach	5 Min.	15 Min.	30 Min.	60 Min.
Probe 1	50 000	7 000	812	464
„ 2	50 000	7 000	584	480
„ 3	25	0	0	0
„ 4	12	0	0	0

Was bei diesem Versuch vor allem auffällt, ist der große Unterschied in der Wirkung auf die Oelemulsion gegenüber der wässerigen Aufschwemmung. Es ist naheliegend, anzunehmen, daß dieser Schutz des Oels dadurch zustande kommt, daß sich die Staphylokokken mit einer Art schützender Oelhülle umgeben, was auch durch mikroskopische Präparate bestätigt wird, die die Kokken mit einer stark lichtbrechenden Masse umgeben zeigen; Aufstriche einer solchen Oelemulsion zeigen auch eine schwerere Färbbarkeit, was ebenfalls mit der schützenden Wirkung gegen Desinfektionsmittel übereinstimmt, da ja die Färbung prinzipiell der gleiche Vorgang ist wie die Desinfektion. Dabei ist noch in Erwägung zu ziehen, daß die Menge der eingesäten Oelbacillen bedeutend kleiner ist als die im Wasser aufgeschwemmten, weil ja durch das Verreiben in der Reibschale etc. große Verluste entstehen.

Eine desinfektionsfördernde Wirkung des Saponins ist in diesem Versuche nicht vorhanden.

Versuch II.

Als Desinfektionsmittel 0,25-proz. Kalilauge; je 2 ccm Desinfektionsflüssigkeit.

Probe 1: Kalilauge mit 1-prom. Saponin, Oelemulsion von Staphylokokken.
Probe 2: Kalilauge ohne Zusatz, Oelemulsion von Staphylokokken.
Probe 3: Kalilauge mit 1-prom. Saponin, Wasseraufschwemmung von Staphylokokken.
Probe 4: Kalilauge ohne Zusatz, Wasseraufschwemmung von Staphylokokken.

Keimzahl nach	5 Min.	15 Min.	30 Min.	60 Min.
Probe 1	unzählbar	unzählbar	100 000	15 000
Probe 2	unzählbar	unzählbar	100 000	15 000
Probe 3	unzählbar	unzählbar	unzählbar	unzählbar
Probe 4	unzählbar	unzählbar	unzählbar	unzählbar

Versuch III.

Als Desinfektionsmittel 1-proz. Kalilauge; je 2 ccm Desinfektionsflüssigkeit. Die übrige Versuchsanordnung wie im vorhergehenden Versuch.

Keimzahl nach	5 Min.	15 Min.	45 Min.	60 Min.
Probe 1	62 000	9 000	900	120
Probe 2	60 000	8 500	850	110
Probe 3	unzählbar	100 000	8 000	350
Probe 4	unzählbar	100 000	8 000	370

Beide Versuche zeigen die größere Desinfektionswirkung in den mit Olivenölemulsion beschickten Proben. Dies dürfte teilweise auf die schon oben erwähnte geringere Menge der in Oel emulgierten Bacillen zurückzuführen sein, teils aber anch als eine Folge der in diesen Proben eintretenden Verseifung zu erklären sein.

Der Zusatz von Saponin ist hier ohne Wirkung.

Generated on 2019-09-15 14:55 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Versuch IV.

Als Desinfektionsmittel 0,05-proz. Lösung von Argentum nitricum (1 : 2000); je 2 ccm Desinfektionsflüssigkeit.

Probe 1: Arg. nitr. mit 1-prom. Saponin, Oelemulsion von Staphylokokken.
Probe 2: Arg. nitr. ohne Zusatz, Oelemulsion von Staphylokokken.
Probe 3: Arg. nitr. mit 1-prom. Saponin, Wasseraufschwemmung von Staphylokokken.
Probe 4: Arg. nitr. ohne Zusatz, Wasseraufschwemmung von Staphylokokken.

Keimzahl nach	5 Min.	15 Min.	25 Min.	45 Min.
Probe 1	unzählbar	unzählbar	65 000	14 000
Probe 2	15 000	6 000	464	0
Probe 3	unzählbar	150 000	28 000	1 300
Probe 4	5 000	14	5	0

Der Versuch zeigt zunächst wieder aufs Deutlichste die schützende Wirkung der Oeleinhüllung; überdies aber eine bedeutende Abschwächung der Desinfektionswirkung durch Saponinzusatz, sowohl für die in Oel als die in Wasser suspendierten Bakterien. Das kann auf die Nährstoffwirkung des Saponins wie auch auf Umsetzungen desselben mit dem Silbersalze zurückzuführen sein.

Versuch V.

Als Desinfektionsmittel 0,05-proz. Lösung von Hydrarg. oxycyanat. (1 : 2000), je 5 ccm Desinfektionsflüssigkeit.

Probe 1: Hydrarg. oxycyanat. mit 1-prom. Saponin, Oelemulsion von Staphylokokken.
Probe 2: Hydrarg. oxycyanat. ohne Zusatz, Oelemulsion von Staphylokokken.

Keimzahl nach	5 Min.	15 Min.	45 Min.	120 Min.
Probe 1	unzählbar	unzählbar	3000	0
Probe 2	unzählbar	unzählbar	0	0

Versuch VI.

Dasselbe Desinficiens wie im vorhergehenden Versuch; je 2 ccm Desinfektionsflüssigkeit.

Probe 1: Hydrarg. oxycyanat. mit 1-prom. Saponin, Oelemulsion von Staphylokokken.
Probe 2: Hydrarg. oxycyanat. ohne Zusatz, Oelemulsion von Staphylokokken.
Probe 3: Hydrarg. oxycyanat. mit 1-prom. Saponin, Wasseraufschwemmung von Staphylokokken.
Probe 4: Hydrarg. oxycyanat. ohne Zusatz, Wasseraufschwemmung von Staphylokokken.

Keimzahl nach	5 Min.	30 Min.	60 Min.
Probe 1	unzählbar	300 000	90 000
Probe 2	unzählbar	300 000	100 000
Probe 3	unzählbar	400 000	150 000
Probe 4	unzählbar	400 000	120 000

Die beiden Versuche zeigen keine Verbesserung der Desinfektionswirkung durch Saponinzusatz, Versuch V sogar eine deutliche Abschwächung; im Versuch VI ist keine deutliche Schutzwirkung durch das Olivenöl zu sehen.

Versuch VII.

Als Desinfektionsmittel 0,05-proz. Sublimatlösung (1 : 2000); je 2 ccm Desinfektionsflüssigkeit.

Generated on 2019-09-15 14:55 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Probe 1: Sublimat mit 1-prom. Saponin, Oelemulsion von Staphylokokken.
Probe 2: Sublimat ohne Zusatz, Oelemulsion von Staphylokokken.
Probe 3: Sublimat mit 1-prom. Saponin, Wasseraufschwemmung von Staphylokokken.
Probe 4: Sublimat ohne Zusatz, Wasseremulsion von Staphylokokken.

Keimzahl nach	5 Min.	15 Min.	30 Min.	60 Min.
Probe 1	72 000	12 000	2	0
Probe 2	70 000	700	0	0
Probe 3	28 000	248	0	0
Probe 4	29 000	5	0	0

Versuch VIII.

Dieselbe Versuchsanordnung wie im vorhergehenden Versuch, nur wird statt der Staphylokokken Bacterium coli angewendet.

Keimzahl nach	5 Min.	15 Min.	30 Min.
Probe 1	352	256	0
Probe 2	100	0	0
Probe 3	52	49	0
Probe 4	49	12	0

In beiden Versuchen tritt neben einer schützenden Wirkung des Olivenöls eine deutliche Abschwächung der desinfizierenden Wirkung des Sublimats infolge des Saponinzusatzes zutage, die sowohl in den Proben mit Oelbacillen, wie in denen mit wässeriger Bacillenaufschwemmung zu sehen ist. Die Ursachen hierfür sind wohl die gleichen wie bei den Versuchen mit Argent. nitricum.

B. Organische Desinfektionsmittel.

Versuch IX.

Als Desinfektionsmittel 2-proz. Karbolsäure; je 5 ccm Desinfektionsflüssigkeit.

Probe 1: Karbolsäure mit 1-prom. Saponin, Oelemulsion von Staphylokokken.
Probe 2: Karbolsäure ohne Zusatz, Oelemulsion von Staphylokokken.
Probe 3: Karbolsäure mit 1-prom. Saponin, Wasseraufschwemmung von Staphylokokken.
Probe 4: Karbolsäure ohne Zusatz, Wasseraufschwemmung von Staphylokokken.

Keimzahl nach	5 Min.	10 Min.	30 Min.	60 Min.	120 Min.
Probe 1	200 000	200 000	3 000	460	0
Probe 2	200 000	200 000	200 000	100 000	10 000
Probe 3	200 000	200 000	260	0	0
Probe 4	200 000	150 000	400	0	0

Versuch X.

Wie im vorhergehenden Versuch; je 2 ccm Desinfektionsflüssigkeit.

Probe 1: Karbolsäure mit 1-prom. Saponin, Oelemulsion von Staphylokokken.
Probe 2: Karbolsäure ohne Zusatz, Oelemulsion von Staphylokokken.
Probe 3: Karbolsäure mit 5 $^0/_{00}$ Saponin, Oelemulsion von Staphylokokken.

Keimzahl nach	10 Min.	20 Min.	30 Min.	60 Min.	120 Min.
Probe 1	unzählbar	unzählbar	200 000	5 000	368
Probe 2	unzählbar	unzählbar	unzählbar	150 000	50 000
Probe 3	unzählbar	unzählbar	100 000	960	9

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 14:55 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Versuch XI.

Als Desinfektionsmittel 2-proz. Karbolsäure; je 2 ccm Desinfektionsflüssigkeit.

Probe 1: Karbolsäure mit 5 $^{0}/_{000}$ Saponin, Oelemulsion von Bacterium coli.
Probe 2: Karbolsäure ohne Zusatz, Oelemulsion von Bacterium coli.
Probe 3: Karbolsäure ohne Zusatz, Wasseraufschwemmung von Bacterium coli.

Keimzahl nach	5 Min.	10 Min.	25 Min.	45 Min.
Probe 1	unzählbar	unzählbar	200 000	94 000
Probe 2	unzählbar	unzählbar	unzählbar	unzählbar
Probe 3	unzählbar	41 000	38 000	1 500

In diesen Versuchen fällt neben der auch hier vorhandenen stark schützenden Wirkung des Olivenöls die große Verbesserung der desinfizierenden Wirkung der Karbolsäure auf die in Oel emulgierten Bakterien durch Saponin auf. In der wässerigen Bakterienaufschwemmung ist, wie aus Versuch X ersichtlich ist, eine derartige desinfektionsfördernde Wirkung des Saponins nicht vorhanden. Es ist wohl am naheliegendsten, sich diese Wirkungsweise des Saponins in der Art vorzustellen, wie dies Prof. v. Walther tut, der sie auf die große Benetzungsfähigkeit der saponinhaltigen Lösungen zurückführt.

Versuch XII.

Als Desinfektionsmittel 1-proz. Lysollösung; je 5 ccm Desinfektionsflüssigkeit.

Probe 1: Lysol mit 1-prom. Saponin, Oelemulsion von Staphylokokken.
Probe 2: Lysol ohne Zusatz, Oelemulsion von Staphylokokken.
Probe 3: Lysol mit 1-prom. Saponin, Wasseraufschwemmung von Staphylokokken.
Probe 4: Lysol ohne Zusatz, Wasseraufschwemmung von Staphylokokken.

Keimzahl nach	5 Min.	30 Min.	60 Min.	120 Min.
Probe 1	unzählbar	unzählbar	75 000	1 500
Probe 2	unzählbar	unzählbar	unzählbar	25 000
Probe 3	0	0	0	0
Probe 4	0	0	0	0

Versuch XIII.

Die gleiche Anordnung wie im vorigen Versuch.

Keimzahl nach	5 Min.	15 Min.	30 Min.	60 Min.	120 Min.
Probe 1	unzählbar	unzählbar	unzählbar	100 000	35 000
Probe 2	unzählbar	unzählbar	unzählbar	unzählbar	unzählbar
Probe 3	1000	7	0	0	0
Probe 4	900	0	0	0	0

Versuch XIV.

Die gleiche Anordnung; Emulsionen von Bacterium coli.

Keimzahl nach	15 Min.	40 Min.	120 Min.
Probe 1	50 000	448	0
Probe 2	80 000	7000	0
Probe 3	0	0	0
Probe 4	0	0	0

Aus den Versuchen geht übereinstimmend hervor, daß der Zusatz von Saponin eine wesentliche Verstärkung der Lysolwirkung auf Olivenölemulsion von Bakterien zur Folge hat. Auch hier fällt der große Schutz durch das Oel auf. Daß die benetzende Wirkung des Saponins auch bei

Generated on 2019-09-15 14:55 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Anwendung von Lysol (Lysol besteht aus 1 Teil technischem Trikresol und 1 Teil neutraler Leinölkaliseife) zur Geltung kommt, zeigt, daß die Saponinbenetzungsfähigkeit der der Seife bedeutend überlegen ist.

Versuch XV.

Als Desinfektionsmittel 1-proz. Lösung von „Odorit" (ein Teerpräparat); je 2 ccm Desinfektionsflüssigkeit.

Probe 1: Odorit mit 1-prom. Saponin, Oelemulsion von Staphylokokken.
Probe 2: Odorit ohne Zusatz, Oelemulsion von Staphylokokken.
Probe 3: Odorit ohne Zusatz, Wasseraufschwemmung von Staphylokokken.

Keimzahl nach	5 Min.	15 Min.	30 Min.	60 Min.
Probe 1	unzählbar	unzählbar	200 000	83 000
Probe 2	unzählbar	unzählbar	unzählbar	unzählbar
Probe 3	14 000	2100	120	0

Auch hier zeigt sich eine deutliche Verbesserung der Desinfektionswirkung auf die Olivenölemulsion durch den Zusatz von Saponin. Die Schutzwirkung des Oeles ist beträchtlich.

Versuch XVI.

Als Desinfektionsflüssigkeit 0,5-proz. Lösung von Formaldehyd; je 2 ccm Desinficiens.

Probe 1: Formaldehyd mit 1-prom. Saponin, Oelemulsion von Staphylokokken.
Probe 2: Formaldehyd ohne Zusatz, Oelemulsion von Staphylokokken.
Probe 3: Formaldehyd mit 1-prom. Saponin, Wasseraufschwemmung von Staphylokokken.
Probe 4: Formaldehyd ohne Zusatz, Wasseraufschwemmung von Staphylokokken.

Keimzahl nach	5 Min.	15 Min.	30 Min.	60 Min.
Probe 1	unzählbar	65 000	1500	0
Probe 2	unzählbar	unzählbar	7000	3
Probe 3	unzählbar	100 000	0	0
Probe 4	unzählbar	85 000	0	0

Starker Schutz durch das Olivenöl, die Wirkung des Formaldehyds auf die Oelemulsion wird durch Saponinzusatz beträchtlich verstärkt.

Eine Verbesserung der keimtötenden Kraft verschiedener Desinfektionsmittel auf Bakterien, die auf Nährböden mit einer Kapsel wachsen (Sarcine), ließ sich durch den Zusatz von Saponin nicht erzielen. Doch gelingt eine solche Verbesserung, wenn man Bakterien verwendet, die auf fetthaltigem Nährboden gewachsen sind, wie der folgende Versuch zeigt.

Versuch XVII.

1 Teil Olivenöl wurde mit 4 Teilen verflüssigtem Agar in der Wärme emulgiert und hierauf möglichst rasch erstarren gelassen. Dabei bleibt die Verteilung des Oeles eine ziemlich feine. Dieser Agar wurde nun mit Staphylokokken geimpft, und nach 24 Stunden je 1 Oese a) in 2 ccm 1-proz. Lysollösung mit Zusatz von 1-prom. Saponin, b) in 2 ccm 1-proz. Lysollösung ohne Zusatz verteilt.

Keimzahl nach	5 Min.	15 Min.	30 Min.	45 Min.
Probe 1	1000	0	0	0
Probe 2	1050	29(?)	65	0

Es ergibt sich aus diesem Versuch eine mäßige, aber deutliche Verbesserung der Desinfektionswirkung des Lysols durch den Saponinzusatz.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 14:55 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Eine ähnliche Verwendung von Saponin zur Verbesserung der Wirkung in desinfizierenden Flüssigkeiten ist uns aus der Literatur nicht bekannt. Auch Prof. v. Walther hat noch keine derartigen Versuche veröffentlicht. Auffallend ist der Umstand, daß wir im Gegensatz zu Prof. v. Walther, der Rezepte für Sublimat-Saponinlösungen angibt, beim Sublimat, wie aus Versuch VII und VIII hervorgeht, eine deutliche Abschwächung der Desinfektionswirkung fanden, deren mutmaßliche Gründe wir bereits oben erwähnten.

In fast allen Versuchen ist die oft sehr hochgradige Schutzwirkung, welche eine Oelumhüllung den zur Prüfung verwendeten Bakterien verleiht, zu erkennen. Es kann kaum einem Zweifel unterliegen, daß die auch im mikroskopischen Bilde erkennbare Oelhülle den Zutritt des Desinficiens, den Eintritt des Giftes in die Zellen verhindert oder verzögert. Es ist daher ein an sich richtiger Gedanke, das Desinficiens auch unter derart für die Keimabtötung ungünstigen Verhältnissen durch Saponin mit den Bakterien wieder in innige Berührung zu bringen. In der Tat hat sich herausgestellt, daß eine Reihe von Desinfektionsmitteln (Karbol, Teerpräparate wie Lysol, Odorit und Formalin) unter dem Einfluß von Saponin auch gegenüber öligen Bakterienemulsionen wirksamer werden, als ohne einen solchen Zusatz. Das bedeutet zweifellos einen wesentlichen Fortschritt für die Desinfektionspraxis und kann, etwa für die Desinfektion von Hautpartieen des menschlichen Körpers, mit Vorteil Verwendung finden. Aber durchgreifend für alle Desinfektionsmittel gilt die verbessernde Wirkung des Saponins nicht, und gerade so viel benutzte Mittel wie $AgNO_3$ und das $AgCl_2$ werden durch einen Zusatz davon sogar abgeschwächt.

Nachdruck verboten.

Zur Kritik der Säureausflockung nach Michaelis.

Von Dr. **L. R. Grote,** Charlottenburg.

Die seit der Bekanntgabe der Methode der Säureausflockung durch Leonor Michaelis erschienenen Arbeiten, die sich mit der Nachprüfung der in Frage stehenden Erscheinungen beschäftigten, haben im großen und ganzen nicht erkennen lassen, daß die Methode schon zu einem integrierenden Bestandteil der Diagnose in der Typhus-Coli-Gruppe geworden ist. Wenn auch die Resultate, die Michaelis und sein Schüler Beniasch[1]) mit der Methode erzielten, im allgemeinen bestätigt worden sind, so waren doch die Ergebnisse der späteren Untersucher in diagnostischer Hinsicht nicht so schlagend und, vor allem, wurden bisherige Methoden anscheinend nicht an Sicherheit überflügelt, noch überflüssig gemacht.

Es gilt dies besonders von dem Verhältnis der spezifischen Agglutination durch Immunsera zur Säureausflockung. Bei Untersuchung dieses Verhältnisses hat sich gezeigt, daß die Säureausflockung wesentlich die Merkmale einer Gruppenreaktion besitzt, während die spezifische Agglutination feinste Zusammenhänge zwischen einzelstehenden

1) Zeitschr. f. Immunitätsforsch. Orig. Bd. 12. p. 268.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 14:56 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Bakterientypen nachzuweisen imstande ist. Es ist dies dadurch erklärlich, daß wir in der Seroagglutination, außer dem Bakterium ein zweites biologisches Moment, eben das Reaktionsprodukt des infizierten Organismus auf den jeweilig infizierenden Stamm in die Reaktion hineinbekommen. Es ist gewissermaßen kein Immunserum, was seine biologischen Valenzen anlangt, dem anderen, auch der gleichen Bakterienart entsprechenden, völlig identisch. In der Säureausflockung haben wir immer das gleiche, künstlich herstellbare und kontrollierbare Reagens zur Verfügung.

Daraus ergibt sich, daß wir bei der Säureausflockung nur mit einer variabelen Größe zu rechnen haben, dem Bakterium, bei der Seroagglutination dagegen mit zweien. Denn wenn wir durch die Theorie Ehrlichs auch bis zu einem gewissen Grade über den formalen Bau der in Betracht kommenden Reaktionskörper uns eine Vorstellung bilden können, so steht es andererseits fest, daß die einzelnen agglutinophoren Gruppen untereinander wiederum verschiedenwertig sind, daß es nicht ein Agglutinin schlechthin (für jede Art beispielsweise) gibt, sondern daß der Immunisierungsprozeß die Entstehung jedes Agglutinins gewissermaßen persönlich auf das agglutininbildende Agens abstimmt und auch wieder abhängig ist von den Eigenschaften des Organismus, in dem die Immunisierung statthat.

Ich brauche zum Beweise dieses kaum daran zu erinnern, wie verschieden zwei, im übrigen scheinbar völlig gleichartige Tiere auf eine Immunisierung reagieren, wie sich dies nicht nur in der Höhe des jeweils erreichten Immunkörpertiters, sondern auch in der Art der erzeugten Antikörper ausspricht. Der eine Organismus reagiert mehr mit Produktion von Agglutininen, während der andere mehr bakterizide oder komplementbindende Stoffe hervorbringt. Von paradoxen Reaktionen, bei denen die Immunstoffe ihre Haupttendenz gar nicht gegen das infizierende Virus richten, ganz zu geschweigen. Die mannigfachen Wege, auf denen man die eine oder die andere Art der Antikörper hervorbringen kann, die doch praktisch immer nur einen relativen Wert erkennen lassen, geben einen nicht mißzuverstehenden Beweis für die Unsicherheit der der serologischen Methodologie zugrunde liegenden Kenntnisse.

Die Säureausflockung nach Michaelis sieht nun ganz ab von dieser bis zu einem gewissen Grade unberechenbaren Mithilfe eines Immunkörpers. Sie hält sich lediglich an die Eigenschaften des Bakteriums selber. Die andere Komponente der Reaktion, die Wasserstoffionenkonzentration, ist unveränderlich, kontrollierbar und jederzeit in gleicher Qualität und beliebiger Quantität leicht herstellbar. Es liegt darin ein unleugbarer Vorteil, wenn auch zunächst auf praktischem Gebiet, bei der Diagnosenstellung noch nicht sofort eingreifend fühlbar, doch auch hier schon zu bemerken, indem durch spezifische Agglutinine unangreifbare Stämme, ferner solche mit Spontanagglutination mit großer Sicherheit wenigstens gruppenmäßig identifiziert werden können.

Es kommt ja aber auch auf die Möglichkeit der Artdiagnosenstellung allein nicht an. Zumal da die neuere Bakteriologie, durch die Ergebnisse der Forschung über die Variabilität der Formen gedrängt, mehr und mehr der Vorstellung einer Inkonstanz der Arten innerhalb relativ kleiner Zeitabschnitte Raum gibt. Es kommt vielmehr darauf an, ob eine Methode uns in einer faßbaren Form die Möglichkeit gibt, in die feineren Lebensvorgänge des Protoplasmas des Bakteriums einzudringen.

Generated on 2019-09-15 14:56 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Es scheint mir dies nun aber in einer besonders exakten Weise bei der Methode der Säureausflockung der Fall zu sein.

Aus den bisher veröffentlichten Beobachtungen geht hervor, daß die Ausflockungsoptima bei den einzelnen Bakterienarten (Typhus, Paratyphus etc.) wohl im allgemeinen übereinstimmen, daß aber doch erhebliche Schwankungen vorkommen, sowohl hinsichtlich der Lage des einzelnen Optimums in der Reihe der Säuregemische, als auch in der Breitenausdehnung der nicht optimalen Reaktion. Wir finden Stämme derselben Art, die nur in einem Säuregemisch ausgeflockt werden, neben solchen, deren Reaktion sich auf drei, vier und mehr Konzentrationsgrade erstreckt. Entsprechende Verhältnisse walten ob hinsichtlich der Reaktionszeit, so daß über den Zeitpunkt, an welchem eine Reaktion als endgültig abgelaufen angesehen werden muß, durchaus noch kein bindendes Gesetz aufgestellt werden kann.

Nun finden sich diese Schwankungen aber nicht nur bei verschiedenen Stämmen derselben Art, sondern auch bei wiederholt angestellten Reaktionen bei einem und demselben Stamm. Beobachtungen dieser Art finde ich in der Literatur verzeichnet bei Beintker[1]). Dieser Autor gibt das Protokoll eines Versuches mit einem Typhusstamm, der nach 1 Stunde gar nicht, nach 6 Stunden im 6. Säuregemisch, nach 24 Stunden in Säuregemisch 4, 5, 6 ausgeflockt wurde. Bei einer Wiederholung (nach welcher Zeit?) vollkommen negatives Resultat. Beintker meint, daß veränderter Alkaligehalt seines Nährbodens hier vielleicht von Einfluß gewesen sei. Bei einem anderen Typhusstamm fand er Ausflockung nach 24 Stunden in Säuregemisch 6 sehr stark, keine Reaktion in 5, deutliche in 2, 3, 4. Die Wiederholung zeigte das gleiche, doch abgeschwächt. In der Protokolltabelle Jaffés[2]) sind Versuche mit 2 Coli-Stämmen verzeichnet (die nach der ursprünglichen Angabe Michaelis' überhaupt nicht ausgeflockt werden sollen), von denen einer („Coli 14") im ersten Versuch in allen 6 Säuregemischen gleichmäßig ausgeflockt wurde, in der Wiederholung nicht in 1, dagegen wies er ein deutliches Optimum in 5 auf. Der 2. Coli-Stamm („Coli 2") wird das erste Mal gleichmäßig (d. h. ohne Optimum) in 4, 5, 6 ausgeflockt, bei der Wiederholung in 3, 4, 5, 6 mit deutlichem Optimum in 5 und 6. Bei 7 wiederholt untersuchten Typhusstämmen registriert Jaffé ähnliche, zum Teil noch stärkere Schwankungen. Schließlich gibt Beniasch[3]) durch die wiederholte Untersuchung seines Gärtner-Stammes „13[4]" ein Beispiel davon, wie die Schwankungen der Ausflockungsoptima endlich ein Ausdruck der Artänderung eines Bakteriums zu werden vermögen. Beniasch gibt allerdings nur die Endglieder der Untersuchungsreihe (wenn anders er sie vollständiger ausgeführt hat), die Protokolle, die als richtige Uebergänge postuliert werden müssen und Merkmale zweier Arten enthalten müßten, sind leider nicht mitgeteilt.

Im folgenden möchte ich nun über einige Versuche berichten, die aus äußeren Gründen zwar nicht weiter verfolgt und ausgebaut sind, die aber vielleicht zeigen können, daß derartige Schwankungen in der Breite der optimalen Säureausflockung häufiger vorkommen und einige Beachtung verdienen[4]).

1) Klin. Jahrb. Bd. 26. p. 383.
2) Arch. f. Hyg. Bd. 76. p. 1.
3) l. c.
4) Die Versuche sind seinerzeit in dem damals der Leitung von Prof. Dr. Dietrich unterstellten städtischen bakteriologischen Untersuchungsamt Charlottenburg-Westend vorgenommen worden.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 14:56 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Die von mir untersuchten Bakterienstämme zeigten folgende kulturelle Eigenschaften, in denen sie im wesentlichen alle übereinstimmten: Es handelte sich um zum Teil lebhaft bewegliche, gramnegative Stäbchen, die die Gelatine innerhalb 36 Stunden verflüssigten. Auf Drigalski-Agar wuchsen sie als blaue Kolonieen. Die Kolonieen des Stammes He. zeigten braungelblichen Farbenton. Lackmusmolke wurde zuerst leicht gesäuert, dann vom 3. Tage an an der Oberfläche dauernd gebläut. Milch wurde am 3.—4. Tage leicht alkalisch, während sich ein krümeliger Niederschlag am Boden bildete und die überstehende Flüssigkeit gelblich-durchsichtig wurde. Etwa am 10. Tage der Beobachtung bei Zimmertemperatur schlug die Reaktion in eine saure um. Die Indolbildung war bei allen Stämmen, auch nach 14 Tagen noch, negativ bei der Prüfung mit Ehrlichs Reagens. Farbstoffreduktion war nicht ausgesprochen. Traubenzucker und Mannit wurden unter Gasbildung gespalten, Rohrzucker und Malzzucker nicht angegriffen. Zwei der Stämme (He. und Gr.) stammten aus Urin, der letztere von einer schweren Cystopyelitis. Das Serum der betreffenden Patientien agglutinierte den Stamm bis 1 : 320. Die beiden anderen Stämme wurden aus diarrhoischen Stühlen isoliert. Von spezifischen agglutinierenden Seren wurden sie an Typhus-, Paratyphus B-, Gärtner-Serum mit negativem Erfolge geprüft.

Die Säureausflockung wurde den originalen Vorschriften Michaelis' entsprechend ausgeführt, deren nähere Beschreibung sich wohl erübrigt. Zur Anwendung kam der Acetatregulator, dessen Säuregemische 1—6 einer Wasserstoffionenkonzentration von (rund) $1 \cdot 10^{-5}$ bis $32 \cdot 10^{-5}$ entsprechen. Der Kürze halber gebe ich immer nur das Ergebnis nach einer Beobachtungszeit von 60 Minuten. Ich weise aber darauf hin, daß auch in bezug auf die Zeit des Auftretens der Ausflockung (von 10 zu 10 Minuten kontrolliert) die mannigfachsten Unterschiede auftraten.

Stamm	Datum	I	II	III	IV	V	VI
	1913						
1) He.	24. April	—	—	—	—	—	—
	26. „	—	—	—	+	+	—
	29. „	—	—	?	+	?	—
	30. „	—	—	+	+	+	?
	1. Mai	—	—	+	+	?	—
	2. „	—	—	—	?	?	—
2) Gr.	24. April	—	+	++	+++	+++	+++
	26. „	—	—	—	+	++	+
	29. „	—	—	++	+++	+++	?
	30. „	—	—	?	+	—	—
	1. Mai	—	—	+	+	?	—
	2. „	—	—	+	+	?	?
3) Bra.	24. April	—	—	—	—	++	+
	26. „	—	—	—	—	++	+
	29. „	—	—	+	++	+++	+++
	30. „	—	—	—	++	+++	++
	1. Mai	—	—	—	?	+	+
	2. „	—	—	—	++	+++	+
4) Jak.	24. April	—	—	++	++	+++	—
	26. „	—	—	+	++	+++	++
	29. „	—	—	+++	+++	+++	+
	30. „	—	?	++	++	+++	+++
	1. Mai	—	—	?	+++	+++	+
	2. „	—	—	+	+	+++	+

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 14:56 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Zwischen den einzelnen Versuchstagen wurden die Kulturen immer auf gewöhnlichem, schwach alkalischen, 3-proz. Agar fortgezüchtet, so daß immer etwa 24-stündige Kulturen zur Verwendung kamen. Die Ergebnisse sind in vorstehender Tabelle zusammengefaßt.

Die Betrachtung der Tabelle lehrt folgendes: Es läßt sich zwar, namentlich bei dem Stamm Jak., ein gewisses Optimum allgemein feststellen, doch sind die Schwankungen, die die Stämme innerhalb 24 Stunden durchmachen, oft derart eingreifend, daß man die Zugehörigkeit mancher Protokolle zu demselben Bakterium in Zweifel ziehen könnte. Es gilt dies vornehmlich von dem Stamm Gr., bei dem innerhalb 24 Stunden nicht nur die Ausflockbarkeit als solche erheblich abnimmt, sondern auch das vorhergehende Optimum sich deutlich zu niederen Konzentrationen hinzieht. Ferner scheint der Stamm Bra. ein fast periodisches Schwanken in der Breite der Ausflockung um das Optimum durchzumachen. In vielen Säuregemischen treten sämtliche Ausflockungsgrade scheinbar regellos auf (Stamm Jak.: Säuregemisch 3 und 6, Stamm Gr.: Säuregemisch 3 und 5, Stamm Bra.: Säuregemisch 4 und 6) usf.

Was kann dieser Erscheinung zum Grunde liegen?

Wir haben gesehen, daß die Säureausflockung mit einem absolut bekannten Faktor arbeitet, der Wasserstoffionenkonzentration. Der andere Faktor, das Bakterium, stellt die Unbekannte dar. Wenn wir nun annehmen, daß gewisse Konzentrationsgrade der Ionen gewissen Eigenschaften oder Stoffen, die, wenn wir an die großen, relativ konstanten Unterschiede zwischen Typhus- und Paratyphusbakterien denken, wohl artcharakteristisch sein können, wenn auch nicht müssen, entsprechen, so liegt die Folgerung auf der Hand, daß eben diese Eigenschaften oder Stoffe im Bakterienprotoplasma während des Lebens vielleicht schon einer Generation dauernd wechseln, und zwar wechseln, wie aus den mitgeteilten Versuchen hervorgeht, ohne durch kulturelle Methoden beeinflußt zu sein, ohne auch auf irgendeine andere Weise für unsere übrigen Nachweismethoden zunächst in Erscheinung zu treten. Es gibt die Methode der Säureausflockung meines Erachtens uns ein Mittel an die Hand, Schwankungen in der Zusammensetzung des Protoplasmas zu registrieren, die sonst nicht nachweisbar sind, die aber, wie die oben angeführte Beobachtung von Beniasch zeigt, auf dem Wege einer Artumwandlung sehr wohl liegen können. Wir können gewissermaßen den Vorgang der Artumwandlung kurvenmäßig ablaufen sehen, als ein einheitliches, zusammenhängendes Geschehnis. Wir sind durch diese Methode befähigt, den Ablauf einer Veränderung in einem bestimmten Differential festzuhalten und zu beurteilen.

Wahrscheinlich werden nicht alle Bakterientypen derart unruhige Ausflockungsbilder geben, wie die angeführten, als sehr inkonstant schon bekannten Bakterien, die systematisch etwa in die Verwandtschaft der Proteus-Arten zu stellen wären, aber prinzipiell dürften sich entsprechende Vorgänge bei allen übrigen Arten auch nachweisen lassen.

Alle bisher beschriebenen Veränderungen von Bakterientypen wurden durch Feststellung der Aenderung ihres Fermentierungsvermögens oder ihres serologischen Verhaltens verifiziert. Diese Verfahrungsweisen müssen notwendig an Feinheit hinter der Säureausflockung zurücktreten. Bei der Prüfung der gebildeten Fermente haben wir immer den Effekt einer ganzen Reihe von Generationen vor uns, den Effekt einer Unzahl

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 14:56 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

konkurrierender Vorgänge im Nährboden aufeinander. Bei serologischer Prüfung müssen wir mit der individuellen Verschiedenheit der Antikörper rechnen, mit ihrer zeitlichen Inkonstanz, Abnutzbarkeit und vielem anderen, das sich unserer Kontrolle noch entzieht. Mit der Anwendung der Säureausflockung haben wir biologisch die Sicherheit des Urteils gewonnen, die uns auf morphologischem Gebiet etwa das mikroskopische Präparat liefert.

Die Tatsache, daß wir nicht wissen, „was" sich hierbei nun eigentlich im Protoplasma ändert, darf meines Erachtens nicht Veranlassung geben, den Wert einer Methode, mit der wir überhaupt einen biologischen Vorgang exakt feststellen können, anzuzweifeln. Denn was z. B. die Aenderung des Fermentierungsvermögens für Milchzucker oder die Aenderung der Kolonieform auf festen Nährböden für ein Bakterium biologisch bedeutet, ist uns doch genau so unbekannt.

Die Identität der agglutinablen Substanz des Bakteriums bei der Seroagglutination und bei der Säureausflockung glaubt Beniasch bewiesen zu haben. Er vergleicht zu diesem Ende die Empfindlichkeit eines Stammes gegen Agglutinine (nach der Titerhöhe) und die gegen Säure (nach der Intensität des betreffenden Optimums). Bei 6 Stämmen findet er Parallelgehen beider. Beintker wies nach, daß eine ganz allgemeine Parallelität wohl besteht, daß aber die Agglutininempfindlichkeit größer zu sein scheint, daß viele Stämme, die durch Sera noch gut beeinflußt werden, eine Säureausflockung nicht mehr zeigen. Heimann[1]) kann von einem Typhusstamm berichten, der durch Serum schnell und leicht agglutiniert wurde, der aber schwer oder gar nicht säureausflockbar war. Von mehreren Seiten ist ferner darauf aufmerksam gemacht worden, daß das morphologische Verhalten der durch Serum und der durch Säure ausgeflockten Bakterien keineswegs identisch ist [Heimann, Grote[2])]. Die durch Säure ausgeflockten Bakterien fallen in großen, lockeren Ballen aus, sind durch leichtes Schütteln wieder trennbar und sedimentieren dann erst wieder nach längerem Stehen, Erscheinungen, wie sie bei der Seroagglutination bekanntlich nicht zu beobachten sind. Es kann in dieser Erscheinung der Ausdruck dafür gesehen werden, daß der Säureausflockung die Bordetsche erste Phase, die Beeinflussung durch das Agglutinin, fehlt und nur die zweite Phase, die eigentliche Niederschlagsbildung, zustande kommt. Ob endlich die Versuche von Beniasch mit gekochten Kulturen bei dem durchaus nicht eindeutigen Resultat, das sie ergaben (sehr verschiedene Mikroben wurden unter diesen Umständen bei gleichen Konzentrationen ausgeflockt, einige bei gleichen wie in ungekochtem Zustand, einige [Vibrionen] wichen auch in diesem Punkte ab), für die Identitätshypothese verwertet werden können, scheint doch noch eines bündigeren Beweises bedürftig.

Aus dem Angeführten ergibt sich eine Beurteilung des Verhältnisses der Seroagglutination zur Säureausflockung etwa in folgender Weise: Die Seroagglutination behält durchaus ihre Bedeutung für die Artdiagnose, ja, sie ist in dieser Beziehung sogar die am feinsten wirksame Reaktion. Die individuell verschiedene Natur der Antikörper, deren Konstitution im einzelnen immer abhängig ist von dem jeweilig immuni-

1) Zeitschr. f. Immunitätsforsch. Bd. 16. p. 127.
2) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 69. p. 98.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 14:56 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

sierenden Agens, bedingt gerade ihre äußerst strenge Spezifität[1]). Dagegen geht die Bedeutung der Säureausflockung sicherlich über die Artdiagnose hinaus. Sie wendet sich möglicherweise an noch andere Stoffe im Protoplasma. Das häufige Uebereinstimmen zweier Arten bei der Säureausflockung läßt annehmen, daß die reagierenden Stoffe in verschiedenen Bakterien identisch sind. Wir wissen nicht, um welche Stoffe es sich hier handelt (Michaelis hat das Ausflocken im isoelektrischen Punkt von Globulinen, Nukleoproteiden und Lipoiden nachgewiesen), nur daß ein dauernder Wechsel in ihrer chemischen Zusammensetzung oder ihren gegenseitigen Beziehungen statthat, erscheint ersichtlich. Es handelt sich somit nicht um eine Artdifferenzierungsdiagnose im engsten Sinne bei der Säureausflockung, sondern um eine Zustandsdiagnose des Protoplasmas, deren Symbole allerdings noch der Lösung harren. Daß im übrigen diese hypothetischen Stoffe auch artverschieden sein können, bzw. mit Artverschiebungen einhergehen und mithin die Methode zum Studium der Variabilität der Mikroorganismen mitherangezogen werden muß, ist durch die angeführten Beispiele zur Genüge erhärtet.

Nachtrag bei der Korrektur.

In einer mir erst nach Drucklegung des Vorstehenden bekannt gewordenen Arbeit (Biochem. Zeitschr. Bd. 47. p. 59) geben Michaelis und Davidsohn den experimentellen Beweis für die Identität der säurefällbaren Substanz mit der bei der Seroagglutination reagierenden, und zwar auf folgende Weise: Mazeration einer Bakterienaufschwemmung (3 Wochen) in Wasser, abzentrifugieren, Fällung der klaren Flüssigkeit mit der entsprechenden Ionenkonzentratien, Lösung des Niederschlages in schwachem Alkali, Wiederausfällung mit spezifischem agglutinierendem Serum. Der Beweis erscheint bündig. Es wird aber prinzipiell an der oben behandelten Problemstellung dadurch nichts geändert. Die Frage kann jetzt nur spezialisierter gestellt werden. Die Stoffe, die sich im Bakterienleibe dauernd zu ändern scheinen, sind dann eben (wenigstens zum Teil) die Agglutinogene, und die Möglichkeit des kolloidchemischen Nachweises ihrer uneinheitlichen und wechselnden Natur steht hier zur Diskussion. Es muß aber darauf hingewiesen werden, daß mit dem erbrachten Nachweis noch kaum etwas zur Erklärung der Spezifitätserscheinungen beigetragen ist. In der angezogenen Arbeit bringen M. und D. den Beweis der Unabhängigkeit der spezifischen Bindung von Antigen und Antikörper von der elektrischen Ladung der Komponenten. Es ist damit anscheinend die Grenze gezogen für die Anwendung elektrochemischer Methoden auf biologischem Gebiet, und das „Eigentliche" des Spezifischen muß bis auf weiteres dem immerhin dunklen Begriff der chemischen Affinität subsumiert werden.

1) Vgl. hierzu Rimpaus Forderung der Verwendung von „Mischseren" bei der Paratyphusdiagnose. Die durch zu große Stammspezifität hervorgerufnne „Unzuverlässigkeit" der Seroagglutination führt R. andererseits aber im circulus vitiosus zurück zu einer Bewertung der kulturellen Merkmale, die gerade bei dieser Bakteriengruppe kaum anerkannt werden wird (Arch. f. Hyg. Bd. 76.)

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 14:56 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Nachdruck verboten.

Ueber den Nachweis der Streptokokken im strömenden Blute.

[Aus dem Hygiene-Institut der Universität Zürich (Direktor: Prof. Dr. W. Silberschmidt).]

Von **Stefanie Reichstein.**

Die bakteriologische Untersuchung des Blutes septisch Erkrankter ergibt auch heute nicht immer die Resultate, die man von ihr erwartet. Die besten Aussichten bietet ohne Frage die sofortige kulturelle Verarbeitung des Blutes am Krankenbett unmittelbar nach der Entnahme, während nach allgemeiner Erfahrung die Resultate schlechter sind, wenn das Blut einer bakteriologischen Untersuchungsanstalt eingesandt wird. Hierbei vergeht immer eine mehr oder weniger lange Zeit bis zur Anlegung der Kultur, und in dieser Zeit können manche Veränderungen vor sich gehen, die nicht ohne Einfluß auf das spätere Wachstum der eventuell vorhandenen Keime sind.

Herr Prof. Silberschmidt veranlaßte mich, experimentell zu prüfen, ob sich nicht durch gewisse Modifikationen in der Technik sowohl der Gewinnung des Blutes wie bei dessen Verarbeitung die Ausbeute der kultivierbaren Mikroorganismen steigern ließe.

Wir beschränkten uns absichtlich auf einen Mikroorganismus (Streptococcus pyogenes), weil dieser Mikroorganismus am häufigsten als Erreger von Allgemeininfektionen vorkommt. Es handelte sich darum, mit einer möglichst einfachen Versuchsanordnung das Optimum der Keimausbeute zu eruieren. Ich arbeitete mit Steptokokkenstämmen, die ich in bestimmter Dosierung Kaninchen intravenös injizierte. Durch die fortlaufende bakteriologische Kontrolle des Blutes erhielt ich gleichzeitig einen Einblick in den Verlauf der Streptokokkensepsis bei Kaninchen.

Technik.

In den Vorversuchen prüfte ich, welche Technik der Blutentnahme bei Kaninchen die geeignetste wäre. In Betracht kamen:

1) Direkte Blutentnahme aus der Carotis,
2) Punktion der Vena jugularis,
3) Entnahme des Blutes durch Einschnitt in die Randvene des Ohres.

Die letztere Methode wäre technisch am einfachsten, hat aber den Nachteil, daß die Vene durch diese Prozedur rasch thrombosiert, wodurch eine wiederholte Entnahme unmöglich gemacht wird. Der Hauptnachteil dieser Methode ist aber der, daß das Blut verhältnismäßig langsam ausfließt und von einer sterilen Gewinnung nicht die Rede sein kann.

Im Gegensatz dazu bietet die Entnahme aus der Carotis die sicherste Gewähr der Sterilität, ist aber zu Serienuntersuchungen begreiflicherweise nicht geeignet. Die größten Vorteile bietet die Methode der Punktion der Vena jugularis. Hierbei drückt der Assistent bei einem aufgespannten Kaninchen auf den inneren Rand des Sternocleido-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 14:56 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

mastoideus, wodurch die Jugularvene gestaut wird. Mit einiger Uebung gelingt es dann leicht, die Vene zu punktieren; sie braucht nicht durch Hautschnitt frei gelegt zu werden. Es ist zweckmäßig, das Blut in eine nicht zu große Glasspritze zu aspirieren; mit einer großen Spritze läuft man Gefahr, daß das Blut gerinnt, da es nicht allzu rasch durch die Kanüle einströmen kann. Die Venen lassen sich, wenn auch nicht beliebig oft, so doch wiederholt punktieren, ohne zu thrombosieren, so daß mit dieser Methodik auch größere Versuchsreihen durchführbar sind. Ueberdies gewährt diese Methode genügende Sicherheit für steriles Arbeiten.

Bei derartigen Versuchen ist es erforderlich, mit einem Material zu arbeiten, das eine bestimmte, nicht zu große, aber auch nicht zu kleine Virulenz aufweist. Durch eine Reihe von Vorversuchen wurde die Virulenz der Kulturen festgestellt und die Menge des zu injizierenden Materials so bemessen, daß die Tiere nicht vor 2 Tagen starben. Wir haben den Verlauf der Infektion bei einigen Tieren bis zu 8 Tagen und noch länger verfolgen können. Das am spätesten gestorbene Tier blieb 30 Tage nach der Infektion am Leben.

Tabelle I.

Vergleichende Untersuchungen auf Glyzerin-, Ascites- und Zuckeragarplatten. Kultureller Nachweis von Streptokokken im Blute.

No. des Kaninchens	Zeit der Blutentnahme	Art der Blutentnahme	Nährboden: Glyzerinagar	Zuckeragar	Ascitesagar
			Zahl der Kolonieen:		
VII	5 Min.	Hirudinblut	100	119	107
		Oxalatblut	120	136	112
		defibrin. Blut	16	14	13
	2 Std.	Hirudinblut	148	150	143
		Oxalatblut	176	172	165
		defibrin. Blut	30	24	24
	6 „	Hirudinblut	127	138	147
		Oxalatblut	160	145	156
		defibrin. Blut	40	46	50
	24 „	Hirudinblut	812	820	804
		Oxalatblut	896	898	868
		defibrin. Blut	416	422	413
	48 „	Hirudinblut	756	776	792
		Oxalatblut	884	849	873
		defibrin. Blut	424	432	448
	3 Tage	Hirudinblut	12 128	12 340	12 282
		Oxalatblut	12 800	12 786	12 750
		defibrin. Blut	1 296	1 232	1 247
VIII	5 Min.	Hirudinblut	105	116	114
		Oxalatblut	123	123	126
		defibrin. Blut	12	12	8
	2 Std.	Hirudinblut	111	113	98
		Oxalatblut	136	135	130
		defibrin. Blut	25	15	18
	6 „	Hirudinblut	191	162	156
		Oxalatblut	244	237	234
		Defibrin. Blut	75	92	112
	24 „	Hirudinblut	4 000	3 950	3 875
		Oxalatblut	4 200	4 234	4 115
		defibrin. Blut	244	222	292

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 14:56 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Die ersten 13 Tiere wurden mit dem gleichen Streptokokkenstamme geimpft; die übrigen mit einem anderen. Diese Stämme wurden zur Erhaltung ihrer Virulenz folgendermaßen aufbewahrt: Seidenfäden wurden mit Herzblut einer mit den Streptokokken geimpften Maus beschickt, bei 37° C im Exsikkator getrocknet und dann in luftdicht verschlossenen Röhrchen in der Kälte und im Dunkeln über Chlorcalcium aufbewahrt. Man kann die Streptokokken auch auf Serum kultivieren und die Serumkultur in der Kälte aufbewahren. Die Virulenz erhält sich auf diese Art ebenfalls, aber weniger lange. Mit Seidenfäden bzw. von einer solchen Serumkultur wurden Bouillonkulturen angelegt und mit abgemessenen Mengen solcher 24-stündigen Kultur wurden die Kaninchen infiziert. Das möglichst steril entnommene Blut wurde sofort in Nährböden (Agar und Bouillon) übertragen. Bei Kaninchen II, III, IV, V und VI wurde das Blut defibriniert und zu Platten verarbeitet. Bei allen übrigen Tieren wurde das Blut teils defibriniert, teils mit Oxalat oder Hirudin behandelt. Es wurden hauptsächlich Bouillon- und Agarkulturen — letztere flüssig geimpft und zu Platten verarbeitet — angelegt. Die Verwendung verschiedener Zusätze zum Agar zum Zwecke besserer Ausbeute erwies sich in unseren Versuchen an 2 Tieren als nicht erforderlich, so daß ich fast ausschließlich mit 4-proz. Glyzerinagar arbeitete (Tab. I).

Verlauf der Streptokokkensepsis bei Kaninchen.

Die Autoren, die sich mit dieser Frage beschäftigt haben, kommen zu verschiedenen Resultaten bezüglich des Verlaufes der Streptokokkeninfektion bei Kaninchen. Nach Wyssokowitsch verschwinden die Streptokokken nach $1^1/_2$—7 Stunden, um sich dann bis zum Tode beständig zu vermehren. Pawlowsky hingegen konnte sie in der ersten Zeit ($1^1/_2$—12 Stunden) stets nachweisen; nach 24 Stunden waren sie verschwunden, um erst einige Tage vor dem Tode oder unmittelbar sub finem wiederzuerscheinen. Nach Weil liegen die Verhältnisse komplizierter. Er stellt 3 Verlaufstypen der Streptokokkeninfektion auf. In Uebereinstimmung mit Wyssokowitsch fand er immer innerhalb der ersten 2 Stunden eine starke Abnahme der Keimzahl; hierauf nimmt bei dem einen Typus die Zahl bis zum Tode beständig zu, bei einem anderen macht sich zunächst eine Vermehrung und dann eine allmähliche Abnahme der Keimzahl auf wenige oder bis Null geltend, beim dritten Typus beobachtet er erst eine langsame Zu-, dann Abnahme der Keimzahl mit plötzlichem Anstieg kurz vor dem Tode. Den ersten Typus mit akutem Verlauf hat Weil nur bei den wenigsten der von ihm untersuchten Tiere beobachtet; am häufigsten erhob er Befunde, die dem zweiten Typus entsprechen.

Was meine eigenen Versuche anbetrifft, so wurden dieselben stets an gleich alten und ungefähr gleich schweren Tieren (ca. 2000 g) ausgeführt. Auch ich fand einen verschiedenen Verlauf der Infektion. Meine Beobachtungen sind in der nachstehenden Tabelle II zusammengestellt.

Ich habe die bei den einzelnen Tieren gefundenen Keimzahlen (im defibrinierten Blute) zur besseren Uebersicht in einigen Kurven eingetragen; auf der Ordinate die Keimzahlen (5, 10, 20, 40 usw.), auf der Abszisse die Zeit der Entnahme nach der Infektion. Die Infektion nahm bei den einen Tieren einen akuten, bei den anderen einen chronischen Verlauf. Bei den akut gestorbenen Tieren stieg die Keimzahl in der Regel von Anfang bis zu Ende gleichmäßig an (s. Fig. 1).

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 14:56 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle II.

Die im Verlaufe der Infektion bei den einzelnen Tieren im defi-

Zeit der Blutentnahme	No. des II	III	IV	V	VI	VII	VIII
5 Minuten	.	.	74	12	29	16	12
2 Stunden	0	0	9	24	421	30	25
6 „	74	8	154	172	255	40	75
8 „	267	.	.	.	.	.	.
24 „	174	46	132	141	220	416	244
48 „	310	12	971	120	95	424	† 30 St.
3 Tage	† 60 St.[1])	150	† 60 St.	54	† 70 St.	1296	.
4 „	.	14	.	† 3½ T.	.	† 3 T.	.
6 „	.	170	.	.	.	.	.
7 „	.	43	.	.	.	.	.
10 „	.	0	.	.	.	.	.
12 „	.	0	.	.	.	.	.
14 „	.	† 14 T.	.	.	.	.	.
15 „	.	.	.	.	.	.	.
22 „	.	.	.	.	.	.	.
30 „	.	.	.	.	.	.	.

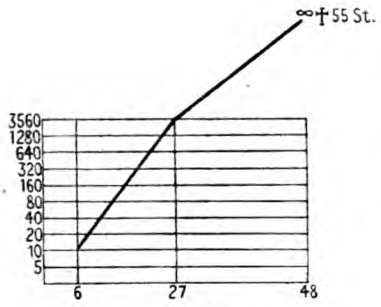


Fig. 1.

Bei Kaninchen II und IV trat vorübergehend eine Verminderung der Keimzahl nach 24 Stunden auf, bei Kaninchen VII vermehrten sich die Keime von der 24. bis zur 48. Stunde nur wenig (s. Fig. 2, 3).

Nur für Kaninchen V und VI wurde innerhalb der ersten 6 Stunden das Maximum der Keimzahl erreicht, während sie im weiteren Verlauf zurückging.

Bei den Tieren mit chronischem Verlauf ergeben sich zweierlei Typen. Ent-

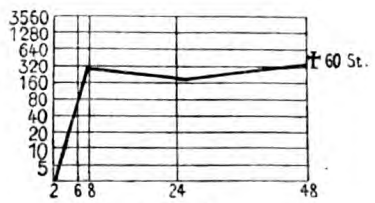


Fig. 2.

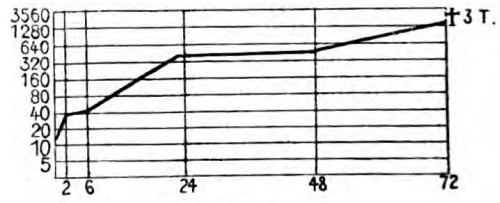


Fig. 3.

weder zeigt die Kurve in den ersten Tagen nach der Infektion mehrere Gipfel mit dazwischen liegenden tiefen Remissionen, um dann flach bis zum 0-Punkte oder nahe an demselben auszulaufen (Fig. 4); oder (bei Kaninchen XVI und XVII) es konnten nur in den ersten 2 Tagen nach der Infektion wenige Keime nachgewiesen werden (Fig. 5), bei allen späteren Entnahmen blieben die Platten bis zum Tode steril. Eine

1) Die Zahl nach dem † gibt die Zahl der Stunden oder Tage an zwischen Infektion und Tod des Tieres.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 14:56 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle II.

brinierten Blute pro Kubikzentimeter gefundenen Keimzahlen.

Kaninchens

IX	X	XI	XII	XIII	XIV	XV	XVI	XVII
32	7	.	.	.	.	.	.	.
37	34	.	.	.	.	.	.	.
112	2	6	.	.	12	5	2	4
.	.	.	2	6	.	.	.	.
220	0	41	47	49	3906	1124	6	14
420	12	16	† 36 St.	1136	∞	1584	3	0
† 55 St.	63	0	.	† 50 St.	† 55 St.	1770	0	0
.	24	10	.	.	.	† 4 T.	.	.
.	75	2	.	.	.	.	0	.
.	32	.	.	.	.	.	0	0
.	9	.	.	.	.	.	† 10 T.[1])	0
.	12	.	.	.	.	.	.	† 14 T.
.	4	.	.	.	.	.	.	.
.	3	.	.	.	.	.	.	.
.	28	0	.	.	.	.	.	.
.	8	† 22 T.	.	.	.	.	.	.
	† 30 T.							

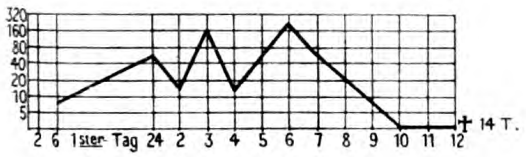


Fig. 4.

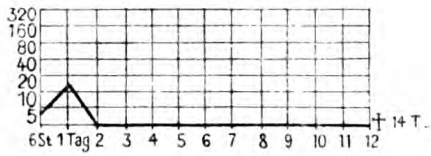


Fig. 5.

starke Zunahme sub finem bei chronischem Verlauf, wie sie Weil bei seinem Typus 3 beschreibt, konnte ich nicht konstatieren. Bei der Sektion freilich fanden sich bei Kaninchen III, X und XI (die an einer mehr chronischen Sepsis litten) im Herzblut viele Streptokokken, bei Kaninchen VII wenige Keime und bei Kaninchen XVI war auch bei der Sektion das Blut steril.

Aus meinen Versuchen, die mit zwei hochvirulenten Streptokokkenstämmen an gleichmäßigem Tiermaterial durchgeführt wurden, ergeben sich vor allem starke individuelle Schwankungen. Die einen Kaninchen sterben akut, wobei die Keimzahl mehr oder weniger regelmäßig, manchmal bis zu recht hohen Werten ansteigt, die anderen Tiere können sich der Keime vorübergehend erwehren und unterliegen einer chronischen Infektion, während welcher nur wenige oder gar keine Keime im strömenden Blute nachweisbar sind. Nähere Untersuchungen über die hierbei in Frage kommenden Immunitätsvorgänge (Opsonine, bakterizide Substanzen, Aggressine etc.) lagen nicht im Rahmen meiner Arbeit.

1) Bei allen Tieren, mit Ausnahme von Kaninchen XVI, konnten im Herzblut Streptokokken bei der Sektion nachgewiesen werden; bei Kaninchen XVII nur wenige.

Generated on 2019-09-15 14:56 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Untersuchungen über den Einfluß der Blutgewinnung auf den Nachweis der Streptokokken im Blute.

Das Hauptaugenmerk wurde darauf gerichtet, ob Beziehungen zwischen der Art der Blutgewinnung und der Zahl der nachgewiesenen Kokken bestehen. Als hindernde Momente kommen die Blutgerinnung und die Wirkung des Serums auf die darin suspendierten Keime in Betracht. Die Wirkung der Gerinnung hätte man sich so vorzustellen, daß die Keime in den Maschen der Gerinnsel zurückgehalten und so dem kulturellen Nachweis entzogen werden; andererseits konnten auch dabei entwickelungshemmende Stoffe frei werden. Löning fing das Blut, um die Gerinnung zu verhindern, in Natriumcitratlösung auf, erzielte aber damit noch schlechtere Resultate als mit defibriniertem Blute. Er führt das nicht auf entwickelungshemmende Substanzen im Plasma zurück, die bei der Gerinnung verschwinden, sondern darauf, daß durch den Entzug der Ca-Ionen die Lebensbedingungen für Streptokokken verschlechtert würden. Meine Versuche führte ich mit Na-Oxalatlösung aus. Es wurden zwei Teile 1-proz. Oxalatlösung und ein Teil physiologischer NaCl-Lösung vermischt und das Blut mit dieser Lösung im Verhältnis von 1 : 3 zusammengebracht; davon wurden je 2 ccm zu Platten verarbeitet. Diese Versuchsanordnung bietet einige Fehlerquellen; bekanntlich ist das Calcium lediglich für die Bildung des Fibrinfermentes notwendig. Hat sich dieses einmal gebildet, so kann es zur Gerinnung auch in einem Oxalatplasma kommen. Man muß daher die Blutentnahme möglichst rasch vornehmen, was nicht immer gelingt. Die zweite Fehlerquelle ist ein schwankender Ca-Gehalt des Nährbodens (was besonders bei Agar in Betracht kommt). Trotz des großen Ueberschusses an Oxalat (für 0,5 ccm Blut würde bereits $^1/_{20}$ ccm Oxalat genügen, um die Gerinnung zu verhindern) läßt sich manchmal nicht ausschließen, daß der Ca-Gehalt des Agars noch nachträglich die Bildung des Fibrinfermentes veranlassen könnte. Um daher trotz dieser Fehlerquellen brauchbare Resultate zu gewinnen, war es notwendig, sehr viele Parallelversuche über den Streptokokkengehalt des Blutes, bzw. des Oxalatplasmas anzustellen. Ich habe insgesamt 62 Blutentnahmen bei 11 Kaninchen gemacht und das defibrinierte bzw. das sofort mit Oxalat vermischte Blut zu Platten gegossen und die Kolonieen gezählt. Die Resultate sind in Tabelle III zusammengefaßt. Aus dieser Tabelle ist ersichtlich, daß sich in der Tat im Oxalatplasma mehr Keime nachweisen lassen, als im defibrinierten Blute.

Die Differenzen sind zum Teil sehr erheblich, z. B. bei Kaninchen VII bei der ersten Blutentnahme: im defibrinierten Blut 16, im Oxalatblute 120 Streptokokken; in anderen Fällen sind sie wieder geringer. Nur zweimal kehrte sich das Verhältnis um (Kaninchen IX und XIV). In 3 Fällen konnten Keime im Oxalatplasma nachgewiesen werden, während die Platten im defibrinierten Blute steril geblieben waren.

Worauf beruht dieser Unterschied? Ist es das mechanische Abfangen der Keime in den Gerinnselmaschen allein oder üben vielleicht die CaIonen einen entwickelungshemmenden Einfluß aus, der durch das Oxalatparalysiert wurde? Es wäre schließlich noch denkbar, daß durch die vorausgehende Verdünnung des Blutes und das nachträgliche Vermischen mit dem Nährboden die Entwickelung der Keime begünstigt wird.

Wenn das Calcium für die Entwickelung der Streptokokken eine Rolle spielen sollte, so mußte man den günstigen Einfluß der Oxalat-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 14:56 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

lösung auch gegenüber dem defibrinierten Blute konstatieren können. Die erste und vierte Rubrik der Tabelle III zeigen aber, daß ein bedeutender Unterschied zwischen dem defibrinierten Blute mit und ohne Oxalat nicht besteht. Der Versuch zeigt demnach, daß die Ca-Entfernung in dem defibrinierten Blute die nachweisbare Keimzahl nicht erhöht. Ferner habe ich das gleiche Blut sofort und ohne daß eine Gerinnung stattfinden konnte mit und ohne Na-Oxalatzusatz verimpft. Unter solchen Umständen zeigte sich der Oxalatzusatz von keinem großen Einfluß auf die Keimzahl. Aus der Tabelle III ist das deutlich zu ersehen. Die Tabelle zeigt gleichzeitig, daß das durch Schlagen zur Gerinnung gebrachte Blut mit und ohne Oxalatzusatz meistens weniger Keime aufweist als das entsprechende nicht defibrinierte, noch vor der stattgefundenen Gerinnung verimpfte Blut.

Diese Befunde erlauben die Schlußfolgerung, daß es nicht Gerinnungsprodukte sind, die irgendwie chemisch die Streptokokken beeinflussen, sondern daß das Defibrinieren als mechanisches Moment die Differenz bedingt.

Um die Wirkung der Verdünnung des Nährbodens zu prüfen, stellte ich einige Versuche an, bei welchen das gewonnene Blut im Verhältnis 1 : 3 mit physiologischer NaCl-Lösung oder Bouillon gemischt war. Das Blut war zum Teil defibriniert, zum Teil sofort vermischt und zu Platten gegossen. Die Versuche, die in Tabelle III zusammengestellt sind, ergeben wohl eine deutliche Vermehrung der Keimzahl; immerhin ist dieselbe im Vergleich zu den Oxalatversuchen eine so geringe, daß die bessere Ausbeute an Keimen bei den Oxalatversuchen nicht auf Rechnung der Verdünnung zu setzen ist.

Zum Beweis, daß die Resultate hauptsächlich von der Gerinnung abhängig sind, versetzte ich bei einigen Versuchen die entsprechenden Blutmengen mit Hirudin. Diese Versuche (Tab. III) ergaben wiederum bedeutend höhere Keimzahlen als das defibrinierte Blut, wenn sie auch etwas hinter denjenigen der Oxalatversuche zurückstehen. Es scheint also doch, daß bei den Oxalatversuchen zu dem Hauptmoment der Gerinnungsverhinderung der günstige Einfluß der Verdünnung sich summiert.

Aus meinen Versuchen ergeben sich folgende Schlüsse: Der bakteriologische Nachweis von Streptokokken im strömenden Blute wird dadurch wesentlich verbessert, daß man bei der Entnahme die Gerinnung des Blutes durch Zusatz von Na-Oxalat verhindert. Diese günstige Wirkung läßt sich nicht durch den Ca-Entzug an sich erklären, denn sonst müßte sie auch bei defibriniertem Blute, dem Oxalat zugesetzt wird, zum Vorschein kommen, oder auch bei unmittelbarem Verimpfen auf einen Nährboden mit oder ohne Calcium-Ionen. Sie läßt sich auch nicht nur auf die Verdünnung des Blutes allein zurückführen, wenn auch die Verdünnung mit NaCl, in geringerem Grade auch die Verdünnung mit Bouillon in den meisten Fällen einen günstigen Einfluß gehabt hat, so ergaben sich doch bei Zusatz von Oxalatlösung in den allermeisten Fällen wesentlich höhere Keimzahlen, als bei Verdünnung mit NaCl bzw. Bouillon. Der regelmäßige Unterschied zwischen dem defibrinierten und dem nicht defibrinierten Blute erlaubt den Schluß, daß das Oxalat dadurch günstig wirkt, daß es die Gerinnung hemmt, d. h. daß es verhindert, daß die Streptokokken mechanisch in die Maschen der Gerinnsel eingeschlossen werden und so dem kulturellen Nachweis entgehen. Dazu kommt noch vielleicht die Wirkung der Verdünnung. Diese zwei Momente summieren

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 14:56 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Generated on 2019-09-15 14:56 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle III.
Vergleichende Versuche über die Keimzahl bei verschiedener Verarbeitung des Blutes.

No. des Kaninchens	Zeit der Blutentnahme	Defibriniertes Blut	Oxalatblut	Nicht defibriniertes Blut	Defibriniertes Blut + Oxalat	Hirudinblut	Defibriniertes Blut + physiologische NaCl-Lösung	Nicht defibriniertes Blut + physiologische NaCl-Lösung	Defibriniertes Blut + Bouillon	Nicht defibriniertes Blut + Bouillon
VII	5 Minuten	16	120	.	.	100	.	.	.	.
	2 Stunden	30	176	.	.	148	.	.	.	.
	6 „	40	160	.	.	127	.	.	.	.
	24 „	416	896	.	.	812	.	.	.	.
	48 „	424	884	.	.	756	.	.	.	.
	3 Tage	1296	12 800	.	.	12 128	.	.	.	.
VIII	5 Minuten	12	123	.	.	105	.	.	.	.
	2 Stunden	25	136	.	.	111	.	.	.	.
	6 „	75	244	.	.	191	.	.	.	.
	24 „	244	4 200	.	.	4 000	.	.	.	.
IX	5 Minuten	32	246	.	.	.	.	45	.	.
	2 Stunden	37	295	.	.	.	.	51	.	.
	6 „	112	407	.	.	.	.	139	.	.
	24 „	220	134	.	.	.	.	232	.	.
	48 „	420	3 000	.	.	.	.	640	.	.
X	5 Minuten	7	81	.	.	.	.	.	.	.
	2 Stunden	34	212	.	.	.	.	.	.	.
	6 „	2	23	.	.	.	.	.	.	.
	24 „	0	59	.	.	.	.	.	.	.
	48 „	12	118	.	.	.	.	.	.	.
	3 Tage	63	602	.	.	.	.	.	.	.
	4 „	24	292	.	.	.	.	.	.	.
	6 „	75	900	.	.	.	.	.	.	.
	7 „	32	440	.	.	.	.	.	.	.
	10 „	9	101	.	.	.	.	.	.	.
	12 „	12	164	.	.	.	.	.	.	.
	14 „	4	46	.	.	.	.	.	.	.
	15 „	3	27	.	.	.	.	.	.	.
	22 „	28	294	.	.	.	.	.	.	.
	30 „	8	118	.	.	.	.	.	.	.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

No. des Kaninchens	Zeit der Blut-entnahme	Defibri-niertes Blut	Oxalat-blut	Nicht defibri-niertes Blut	Defibri-niertes Blut + Oxalat	Hirudin-blut	Defibri-niertes Blut + physio-logische NaCl-Lösung	Nicht defibri-niertes Blut + physio-logische NaCl-Lösung	Defibri-niertes Blut + Bouillon	Nicht defibri-niertes Blut + Bouillon
XI	6 Stunden	6	90	.	.	.	.	26	.	.
	24 „	41	464	.	.	.	.	75	.	.
	48 „	16	156	.	.	.	.	43	.	.
	3 Tage	0	43	.	.	.	.	17	.	.
	4 „	10	82	.	.	.	.	23	.	.
	6 „	2	25	.	.	.	.	14	.	.
	22 „	0	18	.	.	.	.	0	.	.
XII	8 Stunden	2	14	12	7	16	6	15	6	13
	24 „	47	150	123	62	103	50	145	56	154
XIII	8 Stunden	6	99	80	26	107	15	89	12	95
	24 „	49	76	67	54	65	75	87	63	84
	48 „	1136	3264	2624	1216	2564	1190	2690	1156	2724
XIV	6 Stunden	12	10	21	8	18	13	25	12	28
	24 „	3906	∞	∞	3282	∞	3634	∞	3878	∞
	48 „	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞
XV	6 Stunden	5	12	10	5	9	7	12	8	15
	24 „	1124	4650	4608	1160	4790	1152	5402	1188	4222
	48 „	1584	∞	∞	1844	∞	632	∞	640	∞
	3 Tage	1770	∞	∞	1950	∞	1896	∞	1875	∞
XVI	6 Stunden	2	—	—	2	8	4	19	4	17
	24 „	6	25	20	8	14	7	26	8	28
	48 „	3	12	9	4	10	7	8	5	7
	3 Tage	0	2	1	1	3	1	2	3	3
	6 „	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	7 „	0	0	0	0	0	0	0	0	0
XVII	6 Stunden	4	65	42	5	35	5	45	6	44
	24 „	14	27	26	17	25	12	26	13	38
	48 „	0	8	6	1	4	2	9	1	10
	3 Tage	0	2	2	0	0	0	1	0	1
	7 „	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	10 „	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	12 „	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Generated on 2019-09-15 14:56 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

sich, denn die Versuche mit Hirudin, welcher ebenfalls die Gerinnung hemmt, zeigten nicht so starke Keimvermehrung wie die mit Oxalat. Das Auffangen des Blutes in Oxalatlösung hat gegenüber dem Hirudin weiterhin zwei Vorteile:

1) Hirudin ist wesentlich teurer als das Na-Oxalat, und
2) es läßt sich nicht sterilisieren.

Wenn es sich um qualitativen Nachweis handelt, so genügt die Bouillonkultur. In Parallelversuchen blieb bei mir meistens auch die Bouillon steril, wenn auf den Agarplatten keine Kolonieen angegangen waren. Nur 2mal bei den zwei letzten Blutentnahmen bei Kaninchen XVII hatte ich spärliches Wachstum in der Bouillonkultur bei sterilen Agarplatten.

Es fragt sich nun weiter, welchen Einfluß die Zeit hat, welche zwischen Entnahme und kultureller Verarbeitung verstreicht, d. h. ob etwaige Bakterizidie des Serums als schädigendes Moment in Betracht kommt. Weil, der sich in der letzten Zeit besonders eingehend mit dieser Frage beschäftigte, fand gegen Typhusbacillus eine geringe, gegen Streptokokken gar keine Bakterizidie des Serums. Er kam daher zu der Ueberzeugung, daß der Organismus, abgesehen von der Bakterizidie, noch über andere Mittel im Kampfe gegen die Mikroorganismen im strömenden Blute verfügen muß.

Ich habe in einigen Versuchen das Blut sowohl bei Zimmertemperatur wie im Brutschrank stehen gelassen. Sofort und nach 24 Stunden wurde verimpft und die Keimzahl verglichen. Meistens fand ich eine außerordentliche Vermehrung der Keime und kann somit die Angaben von Weil durchaus bestätigen. Eine nennenswerte Bakterizidie liegt nicht vor (Tab. IV). Eigenartig verhält sich das 2 Stunden nach der Infektion

Tabelle IV.

Einfluß der Aufbewahrung des Blutes bei Zimmer- und Bruttemperatur.

No. des Kaninchens	Zeit der Blutentnahme	Sofort verimpft	Nach 24 Stunden verimpft	
			bei Zimmertemperatur aufbewahrt	bei Bruttemperatur aufbewahrt
IV	5 Minuten	74	∞	∞
	2 Stunden	9	11	∞
	6 „	154	∞	∞
	24 „	132	∞	∞
	48 „	971	∞	∞
V	5 Minuten	12	∞	∞
	2 Stunden	24	18	∞
	6 „	172	∞	∞
	24 „	141	∞	∞
	48 „	120	∞	∞
	3 Tage	54	∞	∞
VI	5 Minuten	29	∞	∞
	2 Stunden	421	89	439
	6 „	255	∞	∞
	24 „	220	∞	∞
	48 „	95	∞	∞

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 14:56 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

entnommene, bei Zimmertemperatur aufbewahrte Blut. Dieses zeigte eine geringere Vermehrung. Dieses Verhalten spricht entweder für eine gewisse Bakterizidie des Serums oder für eine geringere Vermehrungsfähigkeit der Streptokokken in dem zu dieser Zeit entnommenen Blute. Die Zahl der von mir nach dieser Richtung untersuchten Kaninchen ist zu gering, um die hierbei in Frage kommenden Vorgänge in ihrem ursächlichen Zusammenhang aufzuklären.

Zur Hämolyse der Streptokokken.

Die Eigenschaft der Hämolysinbildung ist für die Systematik der Streptokokken herangezogen worden, wobei man von der Voraussetzung ausging, daß es sich dabei um eine Arteigenschaft handelt. Auf diesem Standpunkt stehen die meisten Autoren: Schottmüller, Sigwart, Fromme, Sachs, Zangemeister dagegen ist der Ansicht, daß die Hämolyse keine beständige Eigenschaft eines bestimmten Stammes ist, daß sie vielmehr abhänge von dessen Virulenz. Der Unterschied ist nur graduell, indem ein nicht hämolysierender Stamm hämolytisch werden könne. Zangemeister glaubt, daß die hämolysierenden Streptokokken immer, die anhämolytischen aber seltener virulent seien. Das gleiche fand auch Fromme. Die bei schweren Fällen von Puerperalfieber nachweisbaren Streptokokken sind stets hämolytisch und ein Befund von hämolysierenden Streptokokken sei stets als prognostisch ungünstig zu betrachten; übereinstimmend mit Zangemeister fand er, daß auch die nicht hämolytischen, wenn auch viel seltener zum Tode führen können. Im Gegensatz zu diesen Autoren steht die Arbeit von Sachs, der keinen Zusammenhang zwischen Hämolyse und Virulenz sieht, zum Teil auch die Arbeit von Sigwart, der dem Nachweis hämolysierender Streptokokken keine Bedeutung für die Prognose zumißt. Nach Sigwart ist die Stärke der Hämolyse abhängig von der Intensität des Wachstums der Streptokokken, aber nicht von der verschiedenen hämolytischen Kraft einzelner Keime. Nach manchen Autoren soll das Vorhandensein der hämolytischen Streptokokken im Vaginalsekret der Schwangeren stets eine Gegenindikation für die operativen Eingriffe sein.

Bei meinen Untersuchungen habe ich regelmäßig darauf geachtet, ob die Streptokokkenkolonieen von einem hämolytischen Hofe umgeben waren. Die Resultate wurden immer nach 24 Stunden zusammen mit der Kolonieenzahl notiert. Die von mir benutzte Versuchsanordnung unterscheidet sich von solcher anderer Autoren. Während sonst das Blut gesunder Kaninchen mit dem Nährboden vermischt wird, handelt es sich in meinen Fällen um das Blut des infizierten Tieres selber. Ich arbeitete während meiner Versuche mit 2 verschiedenen Stämmen. Mit dem ersten waren infiziert Kaninchen I bis XIII, mit dem zweiten XIV bis XVII. Die Versuche zeigen, wie die Tabelle V angibt, daß bei weitem nicht in allen Fällen eine Hämolyse konstatiert werden konnte, obgleich die von mir benutzten Stämme ursprünglich hämolysierten. Von den akut gestorbenen Tieren konnte ich nur bei Kaninchen II, IV, V, VI und XIV regelmäßig Hämolyse feststellen. Bei diesen waren bei allen Blutentnahmen alle Kolonieen mit deutlichen hämolytischen Höfen umgeben, mit Ausnahme derjenigen mit ∞ Kolonieenzahl, auf welchen wegen der bräunlichen Verfärbung die Unterscheidung der einzelnen Höfe nicht möglich war. Das Blut der übrigen akut gestorbenen Tiere zeigte ganz verschiedenes Verhalten. Bei Kaninchen XII und XIII sind alle Platten ohne Hämolyse, dagegen kommen bei Kaninchen IX auf

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 14:56 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle V.

Ergebnisse der Versuche

Zeit der Blutentnahme	No. des						
	II	III	IV	V	VI	VII	VIII
5 Minuten	.	.	+	+	+	±	±
2 Stunden	0	0	+	+	+	±	±
6 „	+	+	+	+	+	±	±
8 „	+	.	.	.	.	.	.
24 „	+	+	+	+	+	+	+
48 „	+	+	+	+	+	+	.
3 Tage	.	+	.	+	.	+	.
4 „	.	—	.	.	.	.	.
6 „	.	—	.	.	.	.	.
7 „	.	—	.	.	.	.	.
10 „	.	0	.	.	.	.	.
12 „	.	0	.	.	.	.	.
14 „	.	.	.	.	.	.	.
15 „	.	.	.	.	.	.	.
22 „	.	.	.	.	.	.	.
30 „	.	.	.	.	.	.	.

+ = Hämolyse sämtlicher Kolonieen.
± = Hämolyse bei den einen, keine Hämolyse bei den anderen Kolonieen.
— = keine Hämolyse sämtlicher Kolonieen.

allen Platten sowohl hämolysierende wie nicht-hämolysierende Kolonieen nebeneinander vor. Bei Kaninchen XV ist das Blut von der ersten Blutentnahme nicht hämolysiert, von den übrigen 3 Blutentnahmen hämolysiert.

Von den 5 Tieren mit chronischem Infektionsverlauf fand ich nur bei Kaninchen XVII auf allen Platten von allen Blutentnahmen deutliche Hämolyse. Bei Kaninchen X und XI waren alle Platten ohne Hämolyse; bei allen übrigen Kaninchen, die chronischen Verlauf zeigten, ergaben die Platten der einen Blutentnahme Hämolyse, die anderen nicht. Bei manchen war das kurz vor dem Tode entnommene Blut hämolysiert, bei anderen nicht; auf manchen Platten waren ebenso wie bei akut gestorbenen Tieren, hämolysierende und nicht hämolysierende Kolonieen vorhanden. Diese interessante Tatsache, daß ein und derselbe Stamm bei verschieden stark infizierten Tieren verschieden stark hämolysiert, läßt sich, meines Erachtens, nicht ohne weiteres in dem Sinne interpretieren, daß die Streptokokken im Verlaufe der Infektion selbst verändert werden, da die Resistenz der roten Blutkörperchen während der Infektion nicht untersucht wurde. Es ist bekannt, daß nach Injektion hämolysierender Mittel die Blutkörperchen der Tiere gegen das betreffende Mittel resistent werden, und zwar durch Erhöhung der Widerstandsfähigkeit des Stroma. Es ist daher nicht ausgeschlossen, daß gegenüber den Streptokokkenhämolysinen im Verlaufe der Infektion die Widerstandsfähigkeit der roten Blutkörperchen wechselt. Wir haben somit in meinen Versuchen zwei Variable (hämolysierende Eigenschaften der Streptokokken, Veränderung der Widerstandsfähigkeit der Erythrocyten), so daß meine Versuche über die wichtige Frage, welchen Einfluß die Tierpassage auf die hämolysierende Fähigkeit der Streptokokken ausübt, keine Antwort geben können.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 14:56 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle V.

in bezug auf Hämolyse.

Kaninchens

IX	X	XI	XII	XIII	XIV	XV	XVI	XVII
±	—	.	.	.	.	.	.	.
±	—	.	.	.	.	.	.	.
±	—	—	.	.	+	—	—	+
.	.	.	—	—	.	.	.	.
±	0	—	—	—	+	+	+	+
±	—	—	.	—	.	+	+	0
.	—	0	.	.	.	+	0	0
.	—	—	.	.	.	.	.	.
.	—	—	.	.	.	.	0	.
.	—	.	.	.	.	.	0	0
.	—	.	.	.	.	.	.	0
.	—	.	.	.	.	.	.	0
.	—	.	.	.	.	.	.	.
.	—	.	.	.	.	.	.	.
.	—	0	.	.	.	.	.	.
.	—	.	.	.	.	.	.	.

Was den Verlauf der Infektion und die Hämolyse der bei den entsprechenden Kaninchen gezüchteten Streptokokken anbetrifft, so ergaben die Versuche, daß von den 11 akut gestorbenen Kaninchen bei 7 die Streptokokken regelmäßig hämolysierten und nur bei 2 die Hämolyse auf allen Platten fehlte. Andererseits waren bei den 5 chronischen Infektionen 3mal die Kolonieen anhämolytisch. Dieser Befund stützt immerhin die Annahme, daß ein Parallelismus zwischen hämolysierender Eigenschaft und Virulenz bestehe. Irgendeine Beziehung zwischen der Zahl der Kolonieen und Hämolyse war nie zu eruieren. Ich hatte Platten mit viel und mit wenig Kolonieen, die sämtlich hämolytische Höfe hatten und andererseits wieder Platten mit zahlreichen und spärlichen Kolonieen ohne jegliche Hämolyse.

Die Ergebnisse meiner Versuche lassen sich folgendermaßen zusammenfassen:

1) Nach intravenöser Infektion von Kaninchen sind in unseren Versuchen die einen Tiere akut in 1—3 Tagen zugrunde gegangen; bei den anderen Tieren nahm die Erkrankung einen chronischen Verlauf; sie starben nach 5—30 Tagen.

Bei der chronischen Infektion ist die Zahl der in Blutkulturen nachweisbaren Kolonieen verschieden; das eine Mal groß, das andere Mal niedrig. Die Zahl der Streptokokken im Blute ist bei den akut gestorbenen Tieren im allgemeinen größer.

2) Die vergleichenden Untersuchungen mit frischen, defibrinierten und mit Oxalat resp. mit Hirudin behandelten Proben eines und desselben streptokokkenhaltigen Blutes haben ergeben, daß die Keimzahl im durch Schlagen defibrinierten Blut kleiner ist als im nicht geronnenen.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 14:56 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Die Keimzahlen waren stets im Oxalat- resp. Hirudinblut größer als im defibrinierten Blut. Die geringere Keimzahl im geronnenen Blut ist rein mechanisch zu erklären; durch den Gerinnungsvorgang werden die meisten Streptokokken im Fibrin eingeschlossen.

3) Zusatz von Traubenzucker oder Ascites zum Nährboden war in unseren Versuchen ohne Einfluß auf die Keimzahl.

4) Beim Stehenlassen des Blutes bei Zimmertemperatur hat sich die Keimzahl nach 24 Stunden nur ausnahmsweise vermindert. Wurde das Blut in den Brutschrank gestellt, so war regelmäßig eine Zunahme zu konstatieren. Es empfiehlt sich daher bei Blutuntersuchungen, unter der Bedingung, daß die Blutentnahme steril erfolgt ist, einen Teil des Blutes in den Brutschrank zu stellen und nach 24 Stunden weitere Kulturen anzulegen. In keinem einzigen Fall waren durch das Stehenlassen bei Zimmertemperatur die Keime vollständig verschwunden.

5) Die hämolysierende Eigenschaft der beiden Streptokokkenstämme verhielt sich verschieden. Bei dem einen Kaninchen ergaben sämtliche Platten Hämolyse, bei anderen Kaninchen fehlte sie durchgehend oder es wuchsen beim gleichen Tier auf der einen nur hämolytische, auf der anderen nicht-hämolytische Kolonieen. Endlich fanden sich bei mehreren Tieren jeweilen auf einer und derselben Platte hämolytische und nicht-hämolytische Kolonieen.

Zum Schlusse gestatte ich mir, meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Prof. Dr. W. Silberschmidt, für die Anregung zu dieser Arbeit und seine Ratschläge und freundliche Unterstützung bei ihrer Ausführung meinen herzlichsten Dank auszusprechen. Ebenso fühle ich mich Herrn Dr. W. v. Gonzenbach und Herrn Dr. L. Hirschfeld zu herzlichem Danke verpflichtet.

Literatur.

Wyssokowitsch, Ueber das Schicksal der ins Blut injizierten Mikroorganismen im Körper der Warmblüter. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 1.)
Lingelsheim, Ueber die pathologischen Eigenschaften der Streptokokken. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 10.)
v. Fodor, Bakterien im Blute lebender Tiere. (Arch. f. Hyg. Bd. 4.)
Pawlowsky, Zur Frage der Infektion und der Immunität. Das Schicksal einiger (hauptsächlich pyogener) Mikroben im Organismus empfänglicher und immuner Tiere. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 33.)
Weil, Ueber das Verhalten der Streptokokken im strömenden Blute beim Kaninchen. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 68.)
Fischoeder, Beiträge zur Kenntnis des Milzbrandes. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 51.)
Menge u. Krönig, Die Wahl des Nährbodens bei dem kulturellen Nachweise geringer Streptokokkenmengen. (Centralbl. f. Gynäkol. 1900.)
Hossli, Das Verhalten der Streptokokken gegenüber Plasma und Serum und ihre Umzüchtung. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 55. 1910.)
Buchner u. Voit, Untersuchungen über die bakterienfeindliche Wirkung des Blutes. (Arch. f. Hyg. Bd. 10.)
Pettersson, Ueber die bakterizide Wirkung von Blutserum und Blutplasma. (Centralblatt f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 32.)
Nissen, Zur Kenntnis der bakterienvernichtenden Eigenschaften des Blutes. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 6.)

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 14:56 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Bitter, Kommt durch die Entwickelung von Bakterien im lebenden Körper eine Erschöpfung desselben an Bakteriennährstoffen zustande? (Ueber die sogenannte Erschöpfungshypothese). (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 4.)
Nuttall, Experimente über die bakterienfeindlichen Einflüsse des tierischen Körpers. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 4.)
v. Lingelsheim, Experimentelle Untersuchungen über morphologische, kulturelle und pathogene Eigenschaften verschiedener Streptokokken. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 10.)
Sachs, Ueber Streptokokkenhämolyse. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 63.)
Zangemeister, Ueber die Verbreitung der Streptokokken im Hinblick auf ihre Infektivität und ihre hämolytischen Eigenschaften. (München. med. Wochenschr. 1910. No. 24.)
Sigwart, Zur Unterscheidung virulenter, hämolytischer Streptokokken von den avirulenten hämolytischen Streptokokken. (Charité-Annal. Jahrg. 33. 1909.)
Fromme, Die Streptokokken in dem Genitalsekret von Schwangeren und Wöchnerinnen. (München. med. Wochenschr. 1909. No. 10.)
Sigwart, Zur prognostischen Bedeutung der Hämolyse der Streptokokken. (München. med. Wochenschr. 1909. No. 22.)
Zangemeister, Die Hämolyse der Streptokokken. (Deutsch. med. Wochenschr. 1909.)
Besredka, De l'hémolysine streptococcique. (Ann. de l'Instit. Pasteur. T. 15. p. 880.)
Schottmüller, Die Artunterscheidung der für den Menschen pathogenen Streptokokken durch Blutagar. (München. med. Wochenschr. 1903. No. 20.)
Fraenkel, Ueber menschenpathogene Streptokokken. (München. med. Wochenschr. 1908. No. 12. u. 39.)

Nachdruck verboten.

Ueber die Serodiagnose der Rotzkrankheit mittels der Konglutininreaktion.

[Aus der Abteilung für Tierhygiene des Kaiser Wilhelms-Institutes für Landwirtschaft zu Bromberg (Leiter: W. Pfeiler).]

Von Dr. **N. Michin,** Tierarzt aus St. Petersburg.

Das Wesen der Konglutininreaktion, wie sie sie Pfeiler und Weber (1, 2, 3) für die Erkennung der Rotzkrankheit der Pferde angegeben haben, und wie sie nach diesen Autoren von Stranigg (4) und Andersen (5) mit großem Erfolge angewandt worden ist, besteht darin, daß die roten Blutkörperchen des Schafes sich unter Einwirkung inaktiven Rinderserums und frischen Pferdeserums in gewissem Zeitraume zuerst zu kleinen Klumpen, dann zu größeren Massen zusammenballen, die den Boden der Reagierröhrchen in Form eines zusammenhängenden, unregelmäßig begrenzten Häutchens auskleiden. Die neue Methode zeichnet sich durch große Einfachheit der Technik, Leichtigkeit der Bestimmung der Ingredientien, welche in Reaktion treten, Schnelligkeit des Arbeitens (3 Stunden genügen!) und leichte Ablesbarkeit aus.

Da ich im Laufe von 2 Monaten Gelegenheit gehabt habe, neben anderen Arbeiten die, in vielen Fällen im Laufe von Wochen wiederholte Untersuchung der Sera von etwa 200 Pferden, von denen 41 rotzkrank waren, vorzunehmen, möchte ich die Ergebnisse derselben hierunter mitteilen. Die Richtigkeit der Ergebnisse der Konglutininreaktion konnte ich selbst bei der Zerlegung von 12 rotzkranken Pferden kontrollieren; das Ergebnis der Zerlegung der übrigen Pferde wurde stets von den beamteten Tierärzten mitgeteilt, die in allen Fällen die Richtig-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 14:56 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

keit der mittels der serologischen Untersuchung gezeitigtenErgebnisse bestätigten.

Bei Ausführung der Reaktion hielt ich mich an die von Pfeiler und Weber angegebenen Daten. Ich inaktivierte demzufolge das zu untersuchende Pferdeserum bei 58—60° C eine halbe Stunde lang, ebenso das konglutinierende Rinderserum, letzteres jedoch bei einer Temperatur von 54° C. Als Komplement diente Pferdeserum, das jedesmal unmittelbar vor Beginn der Untersuchungen frisch entnommen und zentrifugiert wurde. Das Rotzbakterienextrakt wurde in einer Verdünnung von 1:100, die roten Blutkörperchen des Schafes in 5-proz. Aufschwemmung gebraucht. An Stelle des Rotzbacillenextraktes hat sich mir auch das russische Mallein vom Jahre 1909 und 1912 des Institutes für experimentelle Medizin zu Petersburg in Mengen von 0,05 bis 0,01 ccm (einer Verdünnung 1:10 physiologischer Kochsalzlösung) bewährt. Die genannten Stoffe wurden in folgenden Mengen gebraucht:

1) 0,2 ccm des zu untersuchenden inaktivierten Serums,
2) 0,1 ccm des Bacillenextraktes (Verdünnung 1:10),
3) 0,1 ccm des frischen Komplement-Pferdeserums,
4) 0,8 ccm des inaktivierten konglutinierenden Rinderserums (Verdünnung 3:77),
5) 3 Tropfen 5-proz. Blutkörperchenaufschwemmung des Schafes aus einer 12 g fassenden Pipette mit größerer Ausflußöffnung.

Alle diese Bestandteile werden in der genannten Reihenfolge in Reagensgläschen gebracht, sorgfältig gemischt und, der Uebung des Laboratoriums zufolge, auf den Brutschrank gestellt. Brutwärme ist für den Eintritt der Reaktion nicht notwendig. Das Ergebnis der Reaktion wird nach 3—4 Stunden abgelesen. Während dieser Zeit sedimentieren die roten Blutkörperchen in all den Reagensgläsern, die Serum von gesunden Pferden enthalten, zu Boden, die Flüssigkeit wird dabei klar und durchsichtig, nur in seltenen Fällen sind Spuren von schwacher Hämolyse nachzuweisen. Beim Schütteln der Reagensröhrchen erheben sich die zusammengeballten roten Blutkörperchen vom Boden in Form eines einzigen Koagulums oder, was bei weniger intensiver Konglutination vorkommt, in Form einiger größerer Klumpen. In den Röhrchen, die Serum rotzkranker Pferde enthalten, tritt eine festere Zusammenballung der Blutkörperchen nicht ein, sie sinken nach dem Gesetz der Schwere zu Boden, an den tiefsten Punkt der Röhrchen, wo sie einen scharf umschriebenen, meist kreisrunden Fleck bilden. Beim Schütteln wird die Flüssigkeit in diesen Röhrchen gleichmäßig trübe und rot; etwa zu kleinen Klumpen zusammengeballte rote Blutkörperchen zerfallen schnell und leicht, so daß der Inhalt der Röhrchen nach dem Schütteln wieder das Aussehen der Blutkörperchenaufschwemmung bekommt.

Zwecks Kontrolle werden jeweils zwei Röhrchen mit Serum von gesunden Pferden (mit und ohne Extrakt) und mehrere Röhrchen mit abfallenden Mengen Serums von einem sicher rotzkranken Pferde aufgestellt.

Die Ergebnisse der Reaktion werden bei ausgeprägter Konglutination mit ++, bei schwacher mit + und wenn die Zusammenballung ausbleibt, mit — bezeichnet. Im letzteren Falle ist also Hemmung der Konglutination eingetreten. In der Tabelle ist gleichzeitig noch der Antikonglutinintiter des betreffenden Serums eingetragen, d. h. die kleinste Menge Serums, die noch vollständige Hemmung der Konglutination bedingt.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 14:56 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle.

Bezeichnung des Serums	Konglutinations-wert	Agglutinations-wert	Komplement-ablenkungswert
K.-R. 1	— 0,05	500	0,2
„ 2	— 0,05	500	0,2
„ 3	— 0,05	400	0,2
„ 4	— 0,2	4000	0,1
„ 5	— 0,2	1000	0,2
„ 6	— 0,1	500	0,1
„ 7	— 0,02	1500	0,05
„ 9	— 0,05	2000	0,05
„ 11	— 0,05	600	0,05
„ 12	— 0,02	600	0,05
Schm.	— 0,2	400	0,2
Bor.	— 0,2	2000	0,1
Klo.	— 0,2	500	0,2
Ba.	— 0,02	2000	0,2
Spe. 26	— 0,02	800	0,1
Bod. 28	— 0,02	1000	0,05
Kla. 4	— 0,02	600	0,05
Ba. 14	— 0,02	300	0,1
Spe. 29	— 0,02	500	0,1
Spe. 40	— 0,2	2000	0,02
Sche.	— 0,2	2000	0,02
G. 1	— 0,02	600	0,2
Spro. 3	— 0,2	1500	0,05
„ 4	— 0,2	1500	0,05
„ 5	— 0,2	1000	0,05
„ 7	— 0,02	500	0,02
Hu. 2	— 0,02	500	0,2
P. 1	— 0,2	1000	0,05
P. 2	— 0,2	600	0,05
Schl. 1	— 0,02	1000	0,05
„ 2	— 0,02	500	0,1
„ 3	— 0,02	300	0,1
„ 4	— 0,02	500	0,02
„ 5	— 0,2	1500	0,02
„ 6	— 0,02	300	0,02
Kla. 5	— 0,2	500	0,2
Kla. 7	— 0,02	400	0,2
Ka.	— 0,02	800	0,1
M.	— 0,2	1500	0,02
Ze. 1	— 0,02	1500	0,02
Ze. 2	— 0,02	500	0,05
Spi.	++	400	0
Hez.	++	300	0
Hen. 1	++	300	0
W.	++	500	0
Be. 1	++	300	0
„ 2	++	300	0
„ 8	++	500	0
Zw. 10	++	500	0
„ 11	++	300	0
„ 12	++	300	0
„ 14	++	500	0
R. 1	++	400	0
O. 1	++	300	0
„ 2	++	400	0
„ 3	++	400	0
„ 4	++	300	0
Kü. 1	++	500	0
„ 2	++	500	0
„ 3	++	300	0
„ 4	++	300	0
„ 5	++	300	0

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 14:56 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Am Abend desselben Tages oder am folgenden Tage werden die Sera der als rotzkrank ermittelten Pferde titriert. Die Reaktion wird in der gleichen Weise, wie oben angegeben, mit den verdächtigen Seren in Mengen von 0,2, 0,1, 0,05 und 0,02 ccm ausgeführt.

Im folgenden sind der Raumersparnis wegen nur die Ergebnisse der Untersuchungen der Sera von 41 rotzkranken und 21 gesunden Pferden angegeben. Außerdem sind die bei der Agglutination und Komplementablenkung ermittelten Werte eingetragen. In dem Stabe „Komplementablenkung" bedeutet das 0-Zeichen, daß Hämolyse eingetreten ist.

Aus der Tabelle ist zu ersehen, daß die Konglutininreaktion nach Pfeiler und Weber das Bestehen der Rotzkrankheit mit derselben Sicherheit anzeigt, wie die Ablenkungsmethode, während die Agglutinationsmethode in einem Teil der Fälle wohl nicht zur Aufdeckung der Rotzkrankheit geführt haben würde. Aus der Literatur ist nun bekannt, daß in gegebenen Fällen die Konglutinationsmethode das Bestehen der Rotzkrankheit noch anzuzeigen imstande ist, wo die Komplementablenkungsmethode dies nicht mehr tut (2). Dieses an sich seltene Verhalten findet seine Erklärung im folgenden: Pfeiler und Weber haben gezeigt, daß nach der subkutanen Injektion von Mallein, quantitativ verglichen, bedeutend größere Mengen von Antikonglutininen als von ablenkenden Substanzen gebildet werden, ebenso, daß die Antikonglutinine wesentlich länger als die ablenkenden Substanzen im Blute rotzkranker Pferde nachweisbar bleiben (6). Daraus würde es sich erklären, warum im gegebenen Falle die die Konglutination hemmenden Substanzen bei chronisch rotzkranken Pferden noch zu einer Zeit zu ermitteln sind, wo ablenkende Substanzen nicht mehr gefunden werden.

Daß quantitativ mehr konglutinationshemmende als ablenkende Substanzen gebildet werden, zeigt auch unsere Tabelle. Diejenigen Pferde, die wie K.-R. 1, 2, 3 u. a. einen niedrigen Agglutinations- und gleichzeitig keinen hohen Ablenkungswert (0,2) zeigen, haben weit mehr konglutinationshemmende Substanzen (0,05) in ihrem Blute. Auf der anderen Seite haben Pferde, wie Spro. 3, 4, 5, hohe Ablenkungswerte (0,05) und niedrigere Konglutinationswerte (0,2). Diese Pferde sind frisch infiziert gewesen, wie einmal der Agglutinationswert und zweitens die besonderen Verhältnisse in dem betreffenden Falle erkennen ließen. Die konglutinationshemmenden Substanzen werden, wie Pfeiler und Weber gleichfalls ermittelt haben, später gebildet als die agglutinierenden und die komplementablenkenden. Demzufolge werden sie bei frisch infizierten Pferden zu einer Zeit, wo agglutinierende oder ablenkende bereits vorhanden sein können, noch gar nicht oder in geringerer Menge als diese nachweisbar sein.

Was meine sonstigen Erfahrungen mit der Konglutinationsmethode anlangt, so möchte ich als wichtig bei der Ausführung derselben auf folgende Punkte hingewiesen haben:

1) Die Reagensgläser, in welchen die Konglutination vor sich geht, müssen von bestimmtem Durchmesser sein; sehr enge und

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 14:56 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

kleine verhindern die gleichmäßige Mischung der Bestandteile. Die geeignetste Größe des Reagensglases ist 12—15 cm Länge und $1^1/_4$ bis $1^1/_2$ cm Weite. Da das Gesamtquantum der Flüssigkeit nicht 1,5—1,6 g übersteigt, so erschweren größere Reagensgläser das Ablesen der Reaktion.

2) Die Tropfen der 5-proz. Aufschwemmung der Blutkörperchen müssen aus einer 12—15 g fassenden Pipette mit breiter Spitze fallen; bei Pipetten mit kleiner Ausflußöffnung sind die Tropfen nicht groß genug und die Ergebnisse der Reaktion nicht so ausgeprägt. Am besten ist es, die Menge der roten Blutkörperchen mit einer Pipette von 0,3—0,4 ccm zu bemessen, was dem Volumen dreier Tropfen aus einer Pipette von 12—15 ccm mit weiter Ausflußöffnung entspricht.

3) Nachdem die Flüssigkeiten eingefüllt sind, ist ein sorgfältiges Schütteln der Reagensgläser erforderlich.

4) Die Reaktion tritt rascher ein, wenn die Röhrchen auf dem Brutschrank gehalten werden, wo die Temperatur sich zwischen 18—22° C hält. Bei Zimmertemperatur ist der Ablauf der Reaktion ein langsamerer.

5) Das Ablesen der Reaktion ist am besten nach 3—4 Stunden auszuführen.

6) Beim Ablesen der Reaktion muß man sich an die Regel halten, nach der Beobachtung der Flüssigkeitsklarheit jedes Reagensglas tüchtig zu schütteln; denn es können Fälle vorkommen, wo man nach vorsichtigem Schütteln zuerst den Eindruck einer Konglutination der roten Blutkörperchen in den Röhrchen hat, die Serum rotzkranker Pferde enthalten. Bei weiterem Schütteln zerfallen aber die schwach konglutinierten Kügelchen in solchen Röhrchen immer leicht und schnell, so daß die ganze Flüssigkeit die trübrote homogene Färbung der roten Blutkörperchen annimmt. Ein ganz anderes Bild erhält man beim Schütteln der Reagensgläser mit dem Serum von gesunden Pferden; hier ballen sich die roten Blutkörperchen zu einem Klumpen zusammen und beim starken Schütteln zerfallen sie in einzelne große Flocken, die Flüssigkeit selbst aber bleibt durchsichtig. In einzelnen seltenen Fällen läßt sich eine teilweise Hämolyse der roten Blutkörperchen bemerken; die Flüssigkeit ist dann rötlich, aber doch klar. Sie enthält außerdem regelmäßig Flocken.

7) Als Kontrollen muß man altes Serum von gesunden und rotzkranken Pferden benutzen.

8) Das Rinderserum wird in gewöhnlichen Reagensgläsern erst inaktiviert, dann karbolisiert (0,5-proz.) und in solcher Form kann es 4—6 Wochen lang gebraucht werden. Infolgedessen ist es nicht nötig, jedesmal frisches Rinderserum zu inaktivieren.

9) Die Komplement-Pferdesera müssen jedesmal frisch entnommen werden und klar sein.

Abgeschlossen am 14. November 1913.

Literatur.

1) Pfeiler, W. u. Weber, G., Versuch einer neuen serodiagnostischen Methode bei der Rotzkrankheit. (Berlin. tierärztl. Wochenschr. Jg. 28. 1912. p. 785—788.)
2) — —, Vergleichende Untersuchungen der Sera von 100 Pferden mittels der Agglutinations-, Komplementablenkungs- und Konglutinationsmethode zur Erkennung der Rotzkrankheit. (Zeitschr. f. Infektionskrankh. d. Haustiere. Bd. 12. 1912. p. 397—415.)

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 14:56 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

3) Pfeiler, W. u. Weber, G., Die Technik der Konglutinationsreaktion zur Ermittelung der Rotzkrankheit. (Mitteil. d. Kaiser Wilh.-Instit. f. Landwirtsch. zu Bromberg. Bd. 5. 1913. p. 255—262.)
4) Stranigg, H., Zur Diagnose des Rotzes durch Konglutination. (Zeitschr. f. Infektionskrankh. d. Haust. Bd. 14. 1913. p. 166—185 u. 297—306.)
5) Andersen, C. W., Ueber die Verwertung der Konglutinationsreaktion als diagnostische Probe beim Rotz. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 72. 1913. p. 394—397.)
6) unveröffentlicht.

Nachdruck verboten.

Ueber die Isolierung einzelner Trypanosomen.

[Aus dem Hygienischen Institut der Kgl. Tierärztlichen Hochschule zu Berlin. Direktor: Geh. Medizinalrat Prof. Dr. Frosch. (Abteilung für Tropenhygiene. Vorsteher: Prof. Dr. Knuth.)]

Von Dr. med. vet. **Fr. Henningfeld,**
approb. Tierarzt in Berlin-Wilmersdorf.

Bei der 6. Tagung der Freien Vereinigung für Mikrobiologie in Berlin 1912 hat Prof. Dr. W. Kolle (Bern) (5) in Form einer Diskussionsbemerkung folgende Forderung aufgestellt: „Bezüglich der Serumfestigkeit und der Passagestämme (der Trypanosomen) möchte ich bemerken, daß es notwendig ist, von einer Zelle auszugehen, wenn man sichere Schlüsse über Vererbung aus den Versuchen ziehen will."

Dieses „Ausgehen von einer Zelle", und zwar von einem einzigen Trypanosoma, habe ich mir in der vorliegenden Arbeit zum Ziele gesetzt.

Um dies zu erreichen, suchte ich zunächst nach geeigneten Methoden, einzelne Zellen zu isolieren. Mit dem auf irgendeine Weise isolierten Individuum sollten dann nach verschiedenen Richtungen hin Versuche angestellt werden.

Hierzu schien mir die Methode von Prof. Dr. Lindner vom Institut für Gärungsgewerbe an der Königlichen Landwirtschaftlichen Hochschule in Berlin am meisten Erfolg zu versprechen. Lindner (6) hat seine Methode, die bei der Herstellung von Hefe-Einzellenkulturen mit großem Erfolge angewendet wird, in dem von ihm herausgegebenen Lehrbuche „Mikroskopische Betriebskontrolle in den Gärungsgewerben". 5. Aufl. Berlin 1909. p. 230. genau beschrieben.

Gleichzeitig bemühte ich mich auch, die Isolierung einzelner Individuen mittels sehr feiner Kapillaren zu erreichen. Bekanntlich ist diese Methode von Geheimrat Frosch (3) schon 1896 bei der Isolierung von Amöben mit Erfolg angewendet worden. Hierbei begegnete ich aber anfangs erheblichen technischen Schwierigkeiten. Bald darauf erschien dann die Arbeit von K. Oehler (9, 10): „Ueber die Gewinnung reiner Trypanosomenstämme durch Einzellenübertragung", die mir für meine weiteren Untersuchungen wichtige Fingerzeige gegeben hat. Kurz vor Abschluß der vorliegenden Arbeit erhielt ich ferner noch Kenntnis von den nach der gleichen Richtung hin angestellten Versuchen von S. v. Prowazek (12), der ebenso wie Oehler seine Resultate im Centralblatt für Bakteriologie Abt. I. Orig. Bd. 68. H. 5/6 veröffentlicht hat. Die Versuche v. Prowazeks halten sich im wesentlichen an die von Lindner angegebene Technik. Im einzelnen komme ich auf die

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:01 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Untersuchungsmethoden dieser beiden Autoren bei der Besprechung meiner eigenen Versuche noch zurück. Von W. Nöllers (8) erfolgreichen Deckglaskulturen der Froschtrypanosomen erhielt ich erst Kenntnis nach Abschluß meiner Arbeit.

Vor Beginn meiner Isolierungsversuche habe ich mich zur Orientierung mit der Biologie und Morphologie der Trypanosomen beschäftigt. Hierzu dienten mir die Arbeiten von Jürgens (4), Rabinowitsch und Kempner (13), Doflein (2), Mayer (7), Schuberg und Böing (14) Behn (1), v. Schuckmann u. Wernicke (15), Oehler (9, 10), Ogawa (11) und v. Prowazek (12). Auch habe ich mit deutschen Rindertrypanosomen und den im Blute von Rindern nur auf kulturellem Wege nachweisbaren Flagellaten eine Reihe von Versuchen angestellt. Nach diesen Vorbereitungen begann ich dann mit der Isolierung von einzelnen Trypanosomen.

Technik und Untersuchungsmethoden.

Da ich mich zunächst genau an das Verfahren von Lindner hielt, der mich in seinem Laboratorium in der entgegenkommendsten Weise mit seiner Methode vertraut machen ließ, so sei diese hier eingehend geschildert.

Bei der Lindnerschen Methode kommt es darauf an, eine einzelne Hefezelle zu isolieren, um von dieser Einzelzelle dann einen bestimmten Hefestamm weiterzuzüchten. Zu diesem Zwecke wird die Hefekultur mit Aqua destillata sehr stark verdünnt. Dann nimmt man eine feine Zeichenfeder und macht mit der Flüssigkeit auf ein Deckgläschen eine Reihe ganz kleiner Pünktchen. Damit diese nicht aus- resp. ineinanderlaufen, wird das peinlichst gesäuberte Deckgläschen mit ein wenig Fett (Vaselin oder Paraffin) eingerieben und durch die Flamme gezogen. Während auf das so vorbereitete Deckgläschen die kleinen Pünktchen aufgetragen werden, behaucht man es gleichzeitig, um ein Eintrocknen noch während der Arbeit zu vermeiden. Vorher wird ein gleichfalls peinlich sauberer, hohlgeschliffener Objektträger mit 4 Tröpfchen einer Mischung von Paraffin und Vaselin āā versehen. Hierauf wird dann das Deckglächen mit der behauchten Seite nach unten schnell so auf den Objektträger gelegt, daß die 4 Ecken des quadratischen Deckgläschens auf die 4 Fettpunkte am Rande des hohlgeschliffenen Kreises zu liegen kommen. Die 4 Punkte laufen auf leichten Druck ineinander. Auf diese Weise entsteht dann eine luftdicht abgeschlossene, feuchte Kammer. Nun beginnt die mikroskopische Untersuchung. Die zweckmäßig in mehreren Reihen angeordneten feinen Pünktchen werden systematisch Reihe für Reihe durchsucht. Das Auffinden derselben wird durch die kleinen, infolge des Behauchens sich bildenden Wasserbläschen wesentlich erleichtert. War die Verdünnung ungefähr zweckentsprechend, so findet sich bald ein Tröpfchen, in dem nur eine einzige Zelle vorhanden ist. Das betreffende Pünktchen merkt man sich. Bei einiger Uebung läßt es sich erreichen, daß 20—30 Proz. der Tröpfchen nur je eine Hefezelle enthalten.

Genau nach dieser von Lindner angegebenen Methode habe ich meine Versuche mit der Isolierung von Trypanosomen angestellt. Ich benutzte Blut von Meerschweinchen oder Mäusen, die mit Nagana oder Dourine oder von Kälbern, die mit dem deutschen Rindertrypanosoma infiziert waren. Das Blut wurde mit Bouillon, physiologischer Kochsalzlösung oder Serum verdünnt und weiter in der oben beschriebenen Art

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:00 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

und Weise verfahren. Dabei stellten sich aber alsbald mehrere Mißstände heraus. Zunächst bereitete die richtige Verdünnung des trypanosomenhaltigen Blutes größere Schwierigkeiten; sodann machte sich bald ein weiterer Uebelstand bemerkbar. Da nämlich fast immer nur die allerkleinsten Tröpfchen ein einziges Trypanosoma enhielten, mußten gerade diese winzigsten Tröpfchen längere Zeit beobachtet werden. Trotz der luftdichten Abgeschlossenheit trockneten aber die Tröpfchen nach einigen Stunden mehr und mehr ein. Das Trypanosoma blieb dann häufig am Rande liegen und konnte nicht mehr in den immer kleiner werdenden Tropfen zurückgelangen. Eine weitere Schwierigkeit bestand darin, daß nach kurzer Zeit, dem Gesetze der Schwere folgend, die roten Blutkörperchen im Mittelpunkte des Tropfens als der tiefsten Stelle sich ansammelten. Dadurch wurde die genaue Beobachtung und Kontrolle sehr erschwert oder ganz unmöglich gemacht. Besonders war dies der Fall, wenn sich das Trypanosoma ebenfalls in der Mitte des Tröpfchens befand.

Besser wurden die Untersuchungsergebnisse, als ich statt hohlgeschliffener gewöhnliche Objektträger nahm und nicht mehr eine Reihe von Tröpfchen auf einem Deckgläschen anlegte, sondern nur noch ein einziges im Mittelpunkte. Es wurden dann mittels eines feinen Pinsels nur die Ränder des Deckgläschens ringsherum vorsichtig eingefettet und dasselbe auf einen Objektträger gelegt. Jetzt hing das trypanosomenhaltige Tröpfchen nicht mehr an der Decke der feuchten Kammer, sondern stützte sich unten auf den Objektträger, wodurch eine breitere Basis und somit bessere Durchsichtigkeit geschaffen wurde. Auch lagen die roten Blutkörperchen jetzt nicht mehr in der Mitte dicht beieinander. Daher konnte der Tropfen nun schon ein wenig größer sein, ohne an Durchsichtigkeit zu verlieren, da er ja beim Auflegen des Deckgläschens nur breiter, aber nicht dicker wurde.

Die Isolierung und die Möglichkeit der Beobachtung einzelner Trypanosomen wäre hiernach also erreicht gewesen, wenn sich nicht beim längeren Aufbewahren der so hergestellten Einzellenkulturen neue Schwierigkeiten ergeben hätten. Nach etwa 7—8 Stunden, spätestens aber nach 20 Stunden, lief regelmäßig entweder der Tropfen aus oder das Fett drang in den Tropfen hinein. Somit bot diese Art, einzelne Trypanosomen zu isolieren, zwar keine besonderen Schwierigkeiten mehr, unmöglich aber blieb es, das isolierte Trypanosoma im lebenden Zustande über eine längere Zeitspanne hin genau zu beobachten.

Für Versuche, bei denen es darauf ankam, ein einzelnes Trypanosoma zu isolieren und mit diesem isolierten Individuum weiter zu experimentieren, war also ein gangbarer Weg gefunden. Nun kam es aber vor allem weiter darauf an, diesem isolierten Trypanosoma möglichst günstige Lebensbedingungen zu bieten. Ferner sollte sich das isolierte Trypanosoma mikroskopisch leicht kontrollieren lassen.

Kapillaren.

Da in der oben angegebenen Weise kaum noch auf eine wesentliche Verbesserung des Untersuchungsverfahrens zu rechnen war, so versuchte ich die Isolierung einzelner Trypanosomen mit Hilfe von Kapillaren, wie sie Herr Geheimrat Frosch (3) bei der Isolierung der Amöben angewendet hat. Anfangs wollte dies nicht glücken. Allmählich gelang es mir aber, Kapillaren herzustellen, die allen Anforderungen auf Durchsichtigkeit des Inhaltes entsprachen.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:00 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Um diese Zeit erschien die eingangs erwähnte Arbeit von R. Oehler, der die Isolierung einzelner Trypanosomen ebenfalls mittels Kapillaren versucht und erreicht hatte. Die von Oehler benutzten Kapillaren hatten folgende Maße: 0,02 mm Lichtung und etwas weniger wie 0,01 mm Wandstärke. Die von mir verwendeten Kapillaren hatten im Durchschnitt ein Lumen von 0,018 mm; die Wandstärke betrug 0,006 mm. Die Messung meiner Kapillaren geschah mittels des Zeißschen Kompensationsokulars No. 6 und des Apochromaten 2 mm num. Ap. 1,3. Die Verdünnung des trypanosomenhaltigen Blutes wurde, wie bei den Versuchen mit der Mikrokammer, mit Rinderbouillon, physiologischer Kochsalzlösung, Kaninchen-, Rinder- oder Pferdeblutserum vorgenommen. Wenn eine genügende Menge der verdünnten trypanosomenhaltigen Flüssigkeit in der Kapillare aufgestiegen war, wurde das etwa 7 cm lange Stück auf einen Objektträger gelegt und die beiden Enden vorsichtig unter Benutzung eines feinen Pinsels mit ein wenig Vaselin am Objektträger angeklebt. Hierauf wurde der Inhalt der Kapillare unter dem Mikroskope geprüft. Da es während der mikroskopischen Betrachtung häufiger vorkam, daß durch die ganze Länge der Kapillare eine Luftsäule drang, schloß ich die beiden Kapillarenden luftdicht ab. Vaselin wie auch andere Fette erwiesen sich hierzu als untauglich; recht gut aber gelang der Verschluß mit Leitzschem Deckglaskitt. Derselbe wurde in einem kleinen Porzellanschälchen über der Flamme flüssig gemacht und dann die Kapillarenden hineingetaucht. Dieser Verschluß bewährte sich in der Folge vorzüglich und zeigte sich auch als absolut luftdicht.

Bei der mikroskopischen Untersuchung des Kapillarinhaltes bediente ich mich starker Okulare, in besonderen Fällen des Zeißschen Kompensationsokulars No. 12, und schwacher bis mittelstarker Objektive. Auf diese Weise lassen sich die Trypanosomen infolge ihrer Beweglichkeit sehr leicht auffinden. Hat man erst eine zweckentsprechende Verdünnung, so findet man bald eine Stelle, an der ein einzelnes Trypanosoma durch einen ziemlich großen Zwischenraum nach beiden Seiten hin von den benachbarten Trypanosomen geschieden ist. Um nun dieses Stückchen Kapillare mit dem isoliert liegenden Parasiten aus seinem Zusammenhange zu trennen, empfiehlt sich folgendes Verfahren. Mit einem Leitzschen Objektmarkierer, dessen Spitze mit einem roten Fettstift bestrichen ist, werden zwei rote Pünktchen, innerhalb derer das Trypanosoma sich befindet, auf der Kapillare angebracht. Diese wird dann an den so bezeichneten Stellen, die besonders auf einer weißen Unterlage gut zu sehen sind, mit einem Messer durchtrennt. Ein aufgelegter Objektträger verhindert das Wegspringen des losgetrennten Stückchens.

Nachdem eine abermalige Kontrolle unter dem Mikroskope gezeigt hat, daß sich in dem betreffenden Kapillarstückchen nur ein einziges Trypanosoma befindet, steht die so gewonnene Einzellenkultur zu weiteren Versuchen zur Verfügung.

So einfach diese Methode auch erscheinen mag, so zeitraubend war doch ihre Anwendung. Erst durch große Uebung ließ sich die unbedingt notwendige Schnelligkeit und Sicherheit erreichen. Versucht habe ich mit diesen Methoden sowohl die Isolierung pathogener wie die nichtpathogener Trypanosomen.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:00 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Isolierung von pathogenen Trypanosomen.

Von pathogenen Trypanosomenstämmen habe ich das Trypanosoma brucei (Stamm Ferox) und das Trypanosoma equiperdum (Beschälseuche Ostpreußen 1908) benutzt. Die Resultate bei dem ersteren waren folgende. Bei Isolierung nach der Lindnerschen Methode und Verdünnung mittels steriler Rinderbouillon blieben einzelne Trypanosomen bis zu 4 Stunden lebhaft beweglich; dann wurden die Bewegungen matter, und nach längstens 5—6 Stunden war keine Bewegung mehr zu bemerken. Irgendwelche Veränderungen an den einzelnen Individuen waren während dieser Zeit nicht wahrzunehmen.

Erfolgte die Verdünnung mit steriler physiologischer Kochsalzlösung, so betrug die längste Bewegungsfähigkeit 5 Stunden. Diese wurde jedoch nur einmal ausnahmsweise beobachtet, in allen anderen Versuchen dieser Art war sie bedeutend kürzer, und zwar betrug sie durchschnittlich nur etwa 3—4 Stunden. Auch hier ließen sich besondere Veränderungen an den sorgfältig beobachteten Trypanosomen nicht wahrnehmen.

Bei Verdünnung mit Serum blieben die widerstandsfähigsten Exemplare des Trypanosoma brucei 7 bis höchstens 8 Stunden bewegungsfähig, ohne auch hier irgendwelche Veränderungen zu zeigen.

Ganz ähnliche Resultate zeigten die mit Beschälseuche-Trypanosomen vorgenommenen Versuche. Auch bei diesen war es unmöglich, zu entscheiden, ob die Lebenskraft der Trypanosomen infolge der Ueberführung in die Verdünnungsflüssigkeit in den angegebenen Zeiten erlosch, oder ob die Veränderungen am Tropfen auf die Lebensdauer der Parasiten ungünstig einwirkten. Die ermittelten Zeiten für die Lebensdauer der widerstandsfähigsten Exemplare in der Feuchtkammer waren bei Verdünnung mit Bouillon 6, mit physiologischer Kochsalzlösung 5 und mit Serum höchstens 8 Stunden. Auch hier wurden niemals irgendwelche Veränderungen oder gar eine Vermehrung beobachtet.

Darauf ging ich zu Isolierungsversuchen mittels Kapillaren über, und zwar zunächst mit dem Trypanosoma brucei. In Kapillarröhrchen, die auf die oben beschriebene Weise mit Leitzschem Deckglaskitt fest verschlossen waren, blieben die widerstandsfähigsten Exemplare bei Verdünnung des trypanosomenhaltigen Blutes mit Bouillon 8—9, mit physiologischer Kochsalzlösung 7—8 und mit Serum 11—12 Stunden beweglich. Analoge Versuche mit Trypanosoma equiperdum ergaben als Höchstzahlen bei Verdünnung mit Bouillon 14, mit physiologischer Kochsalzlösung 8 und mit Serum 23 Stunden.

Auch bei allen diesen mit Kapillaren angestellten Versuchen gelang es niemals, eine Teilung oder Vermehrung der Trypanosomen zu beobachten, trotz der verhältnismäßig langen Lebensdauer, die einmal sogar 23 Stunden überschritt, und trotzdem ich über hundert Versuche nach dieser Richtung hin angestellt habe.

Infektionsversuche mit je einem Trypanosoma.

Um festzustellen, ob bei scheinbarem durch das Mikroskop kontrolliertem Verschwinden der Trypanosomen aus der Kapillarflüssigkeit diese tatsächlich nicht mehr infektiös ist, wurde folgender Versuch angestellt. Von einer sehr stark mit Trypanosoma brucei infizierten Maus wurde Blut mit Bouillon reichlich vermischt, und mit dieser Flüssigkeit

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:00 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

zwei Kapillaren gefüllt, die doppelt so stark und etwa dreimal so lang waren, wie die gewöhnlich verwendeten. Bei der um $10^1/_2$ Uhr vormittags unter dem Mikroskope vorgenommenen Prüfung zeigte sich eine große Anzahl von Parasiten, die sich äußerst lebhaft hin und her bewegten. Nach wiederholter sorgfältiger Kontrolle war um 7 Uhr abends kein lebendes Individuum mehr anzutreffen und überhaupt keine Spur von Trypanosomen mehr zu finden. Darauf wurde der Inhalt dieser beiden Kapillaren je einer Maus eingeimpft. Keine von den beiden Mäusen erkrankte. Dieser Versuch wurde am 10. April ausgeführt, am 15. April mit 2 Mäusen und am 21. April mit einer Maus wiederholt, ohne daß eine Infektion eintrat.

Hierauf ging ich dazu über, mit je nur ein einziges lebendes Trypanosoma enthaltenden Kapillarstückchen, die auf die oben beschriebene Art und Weise herausgeschnitten worden waren, andere Tiere zu infizieren.

Am 5. Mai wurden 2 Mäuse mit je einem Stückchen einer Kapillare, das nur ein Trypanosoma des Dourinestammes enthielt, subkutan am Rücken geimpft. Die Verdünnung des Blutes war mit Rinderbouillon erfolgt. Die Impfung geschah auf folgende Weise: Nachdem unter der Rückenhaut nach der üblichen Methode möglichst aseptisch durch Einschieben einer Pinzette oder Schere eine Hauttasche gebildet war, wurde das Kapillarstückchen mit einer feinen Pinzette gefaßt und möglichst weit unter die Haut geschoben. Die Wunde wurde dann mit Kollodium geschlossen.

Am folgenden Tage wurden noch 2 weitere Mäuse auf dieselbe Art, aber diesmal mit Trypanosoma brucei geimpft. Die Blutuntersuchung ergab am 9., 12. und 15. Mai ein negatives Resultat bei allen 4 Mäusen. Am 18. starb eine der mit Trypanosoma brucei geimpften Mäuse, doch war leider eine Untersuchung nicht möglich, da die anderen Mäuse sie bis auf geringe Reste aufgefressen hatten. Auch am 22. Mai war die Blutuntersuchung der noch lebenden 3 Mäuse negativ. Der Versuch wurde damit abgebrochen. Die Infektion der 3 Mäuse mit einem Trypanosoma war somit nachweislich nicht gelungen.

Da Oehler sich bei seinen Versuchen, eine Infektion mit einem Trypanosoma herbeizuführen, zur Hineinschaffung des Kapillarstückchens in den Tierkörper der Spritze bedient hatte, so beschloß ich, diesem Beispiele zu folgen.

Am 22. Mai wurde einer Maus ein Stückchen Kapillare, das Rinderbouillon und ein Trypanosoma brucei enthielt, mittels einer Spritze, die mit 1 ccm steriler physiologischer Kochsalzlösung gefüllt war, auf folgende Weise eingeimpft: Der Stempel der Spritze wurde so weit vorgedrückt, bis ein Tröpfchen der Kochsalzlösung an der Kanülenspitze hing. Nachdem dann das Kapillarstückchen, das zur Infektion dienen sollte, vorsichtig auf dem Objektträger so weit vorgeschoben war, daß es ein wenig über den Rand herausragte, wurde die Spitze der Kanüle mit dem vorgepreßten Tröpfchen Kochsalzlösung vorsichtig genähert. Im Momente der Berührung wurde das kleine Kapillarstückchen von dem Tröpfchen aufgesaugt. Hierauf wurde das Tröpfchen vorsichtig mit der Spritze wieder aufgenommen, wobei das Glasröhrchen ebenfalls in die Kanüle hinein gelangte. Sodann wurde der ganze Inhalt der Spritze, also 1 ccm Kochsalzlösung plus dem Kapillarstückchen, in dem sich Bouillon plus ein Trypanosoma brucei befand, einer Maus in die Bauchhöhle gespritzt.

Generated on 2019-09-15 15:00 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Der Vorteil der Anwendung der Spritze liegt meines Erachtens hauptsächlich darin, daß durch die gleichzeitig eingeführte Flüssigkeitsmenge es dem Trypanosoma erleichtert wird, aus der Kapillare zu entkommen. Nach der Impfung nahm ich jedesmal eine sehr sorgfältige Untersuchung der Spritze und der Kanüle vor, um mich davon zu überzeugen, daß das Kapillarstückchen auch tatsächlich mitverimpft worden war.

Am 23. Mai wurde noch eine zweite Maus auf die oben beschriebene Art und Weise intraperitoneal mit einem Trypanosoma brucei geimpft.

Die Blutuntersuchung dieser beiden am 22. und 23. Mai geimpften Mäuse ergab am 27. ein negatives Resultat, und als die Blutuntersuchung auch am 31. Mai noch negativ blieb, wurde die weitere Beobachtung aufgegeben.

Zwei am 2. Juni auf dieselbe Weise mit je einem Trypanosoma equiperdum geimpfte Mäuse blieben ebenfalls dauernd gesund. Da ich mich bei meinen letzten Versuchen streng an die Angaben Oehlers gehalten hatte, dessen Mäuse zu einem Drittel infolge der Infektion mit einem Trypanosoma erkrankt waren, glaubte ich, meine eigenen Mißerfolge in der Art der Trypanosomenstämme suchen zu müssen. Oehler gibt nämlich in seiner Mitteilung nicht an, welche Trypanosomenstämme er benutzt hat.

Da erschien die eingangs erwähnte Arbeit v. Prowazeks, der nach der Feuchtkammermethode gearbeitet hat und dem es gelungen war, mit einem Trypanosoma equinum Voges (Mal de Caderas) sowie mit einem Trypanosoma rhodesiense Infektionen herbeizuführen. Da nun aber, wie ich schon früher auseinandergesetzt habe, die Arbeit mit Kapillaren gegenüber der Arbeit mit hängenden Tropfen ganz bedeutende Vorteile aufweist, nahm ich bei meinen weiteren Versuchen einige kleine Aenderungen vor, die sich in der Folge auch als sehr bedeutsam erwiesen haben. Zunächst wurde das trypanosomenhaltige Blut nicht mehr mit Bouillon, sondern mit Kaninchenblutserum verdünnt, das sich, wie schon erwähnt, bei der Beobachtung auf die Lebensdauer isolierter Trypanosomen als viel geeigneter wie Bouillon und vor allen Dingen besser als physiologische Kochsalzlösung erwiesen hatte. Auch wurde zum Miteinspritzen nun nicht mehr physiologische Kochsalzlösung, sondern gleichfalls Kaninchenblutserum verwendet. Ferner wurde nicht mehr mittels eines hervorgepreßten Flüssigkeitströpfchens das Kapillarstückchen in die Kanüle eingesaugt, sondern das wieder ein wenig über den Rand des Objektträgers vorgeschobene feine Röhrchen mit der Höhlung der Kanüle zu fassen und in dieselbe hineinzuschieben gesucht. Die Kanüle muß hierbei trocken sein. Nachhelfen mit einer feinen Pinzette erleichtert das Arbeiten bedeutend. Befindet sich das Kapillarstückchen in der Kanüle, so sticht man in die Bauchhöhle ein, setzt die mit $^1/_2$—1 ccm Kaninchenblutserum bereit gehaltene Spritze auf die Kanüle auf und befördert mit einem kräftigen Druck den Inhalt der Spritze in die Bauchhöhle, wobei das Stückchen Kapillare mitgerissen wird.

Diese kleine Aenderung hatte den immerhin nicht zu unterschätzenden Vorteil, daß die Kapillare fast im selben Moment in die Bauchhöhle befördert wurde, in dem sie mit der Flüssigkeit der Spritze in Berührung kam, daß es also so gut wie ausgeschlossen war, daß das Try-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:00 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

panosoma aus seinem Kerker entwich, bevor es an den Ort seiner Bestimmung befördert war. Während anfangs von der Blutentnahme bis zum Augenblicke des Einimpfens eines in einem Kapillarstückchen isolierten Trypanosomas durchschnittlich $2^1/_2$—3 Stunden vergingen, gelang es mir nach längerer Uebung, diese Zeit erheblich abzukürzen. Schließlich vermochte ich sogar unter besonders günstigen Umständen drei Impfungen in einer Stunde zu erledigen.

Vermutlich finden die früheren negativen Resultate in dem langsamen Arbeiten ihre Erklärung.

In einer am 3. Juli begonnenen Versuchsreihe gelang es mir, innerhalb eines Tages 13 Mäuse mit einem Stückchen Kapillare, das mit Kaninchenblutserum verdünntes, ein Trypanosoma equiperdum beherbergendes Meerschweinchenblut enthielt, plus 1 ccm Kaninchenblutserum intraperitoneal zu impfen. Am 7. Juli waren von diesen 13 Mäusen 7 infiziert, die sofort von den 6 anderen, bisher nicht infizierten, getrennt wurden. Bei einer abermaligen Blutuntersuchung am 9. Juli waren von den 6 noch nicht infizierten Mäusen abermals 2 positiv. Die übrigen 4 Mäuse blieben am Leben und zeigten sich auch bei mehrfacher Blutuntersuchung stets negativ. Das Resultat dieses Versuches war also folgendes: Von 13 mit je einem Trypanosoma equiperdum geimpften Mäusen wurden innerhalb von 6 Tagen 9 positiv, also ca. 70 Proz. Die übrigen 4 blieben gesund.

Am 4. Juli wurde dann noch ein analoger Versuch mit dem Trypanosoma brucei angestellt und 7 Mäuse mit je einem Individuum in der oben angegebenen Weise geimpft. Von diesen 7 geimpften Mäusen waren bei der Blutuntersuchung am 7. Juli 2 Mäuse positiv, bei der weiteren Untersuchung am 9. Juli noch 3 weitere positiv, während die 2 übrigen gesund blieben. Hier ergab es sich also, daß von 7 geimpften Mäusen 5 positiv wurden, also 70 Proz., während sich 2 als nicht infiziert erwiesen.

Veränderungen an den Trypanosomen der infizierten Mäuse zeigten sich weder im lebenden noch im gefärbten Präparate.

Auffällig ist die lange Inkubationsfrist von 4, ja bei 2 Mäusen sogar von 6 Tagen bei der Infektion mit dem Trypanosoma equiperdum. Hierzu sei erwähnt, daß gerade dieser Stamm außerordentlich virulent war und durchschnittlich in spätestens $3^1/_2$ Tagen Mäuse tötete. Schon nach $1^1/_2$ Tag pflegten sich zahlreiche Parasiten in der Blutbahn zu zeigen. Im Gegensatz hierzu lebten die mit je einem Trypanosoma infizierten Mäuse durchschnittlich noch 2—3 Tage von dem Zeitpunkt ab, an dem die Trypanosomen im Blute zuerst auftraten. Bei den mit dem Trypanosoma brucei infizierten Mäusen zeigten sich viel geringere Abweichungen von der normalen Infektion. Immerhin dauerte auch hier bei 3 Mäusen die Inkubationszeit länger als 3 Tage. Daraus ließ sich der Schluß ziehen, daß bei Impfung mit nur einem Trypanosoma die Zeit bis zum Auftreten der Parasiten in der Blutbahn wesentlich verlängert wird. Dabei wich die Art ihres Erscheines im Blutkreislaufe in keiner bemerkbaren Weise von dem sonstigen Auftreten ab.

Isolierung von wenig oder gar nicht pathogenen Trypanosomen.

Bei den Versuchen zur Isolierung von wenig oder gar nicht pathogenen Trypanosomen bediente ich mich sowohl des Trypanosoma

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:00 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

theileri als auch der nur auf kulturellem Wege nachweisbaren Flagellaten aus deutschen Rindern, die P. Behn kurzweg Kulturflagellaten genannt hat. Da die mir zur Verfügung stehenden mit Trypanosoma theileri infizierten Kälber nicht genügend Parasiten in der Blutbahn aufwiesen, um bei starker Verdünnung, die zur Isolierung einzelner Zellen unbedingt erforderlich ist, ein einzelnes Individuum auffinden zu können, so versuchte ich auf kulturellem Wege eine Vermehrung der Trypanosomen zu erzielen. Zu diesem Zwecke wurden am 22. Febr. 14 Rinderbouillonröhrchen mit defibriniertem Blute von dem Kalb 27 beschickt, und zwar auf 5—6 ccm sterile Rinderbouillon $1^1/_2$ ccm defibriniertes Blut. In dem Blute dieses Kalbes befanden sich zu dieser Zeit ziemlich viel Trypanosomen.

Die Hälfte der Bouillonröhrchen wurde im Brutschrank bei 36,5° C, die anderen bei Zimmertemperatur aufbewahrt. Bei den im Brutschrank aufgehobenen Röhrchen zeigte sich nach 6—8 Tagen eine starke Vermehrung der Trypanosomen, die bis zum 5. März anhielt. Das letzte lebende Trypanosoma wurde am 7. März, also nach 14 Tagen, gefunden.

Da ich nun gesehen hatte, daß im Brutschrank in Rinderbouillonröhrchen eine reichliche Vermehrung der Trypanosomen stattfand, so wurden, um mit den eigentlichen Einzellenversuchen beginnen zu können, am 8. März von neuem 20 Rinderbouillonröhrchen mit je $1^1/_2$ ccm defibrinierten Blutes von Kalb 27 beschickt. Auch hier wurde wieder ein Teil bei Zimmertemperatur, der andere im Brutschrank bei 36,5° C aufbewahrt. Aber von beiden Teilen wurde nicht ein einziges Röhrchen positiv. Dies läßt sich meines Erachtens nur dadurch erklären, daß sich um diese Zeit im Blute des betreffenden Kalbes gar keine oder nur noch sehr wenige Trypanosomen befanden.

Ferner waren am 24. Febr. 30 Pferdeblutagarröhrchen mit je 5 bis 6 Tropfen defibrinierten Blutes von Kalb 27 beschickt, und hiervon ebenfalls die eine Hälfte im Brutschrank bei 36,5° C, die andere bei Zimmertemperatur aufgehoben worden. Bei keinem dieser Röhrchen zeigte sich eine Vermehrung der Trypanosomen, was allerdings wahrscheinlich auf Infektion mit Bakterien zurückzuführen ist.

Gleichzeitig mit diesen Kulturversuchen und teilweise unter Verwendung der in der Kultur befindlichen zahlreichen Trypanosomen wurden Isolierungsversuche nach der Lindnerschen Methode gemacht. Dabei gelang es mir häufig, das Trypanosoma theileri in einem hängenden Tröpfchen zu isolieren und 5—6 Stunden lang zu beobachten. Aber trotzdem sich das Trypanosoma doch in derselben Flüssigkeit befand wie in der Kultur, nämlich in steriler Rinderbouillon, bemerkte ich niemals einen Vorgang, der auf Teilung oder Vermehrung schließen ließ. Auch die nach der Beobachtung in der feuchten Kammer gefärbten Trypanosomen zeigten außer starker Granulation keinerlei Veränderungen.

Um derartige Präparate noch nachträglich zu färben, nimmt man das Deckgläschen vorsichtig wieder ab und wischt die nicht in Betracht kommenden Tröpfchen sorgfältig weg. Dann fixiert und färbt man den betreffenden Tropfen. Ich habe dieses Verfahren öfter geübt, aber niemals bemerkenswerte Veränderungen an den Trypanosomen vorgefunden. Später als ich durch die Kapillarmethode vielleicht imstande gewesen wäre, längere Beobachtungen eines einzelnen Exemplars des Trypanosoma theileri vorzunehmen, war dies nicht mehr möglich,

Generated on 2019-09-15 15:00 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

weil es sich herausstellte, daß bei der Impfung frischer Kälber mit dem Blute unserer alten positiven Kälber nur noch eine so schwache Trypanosomenvermehrung zustande kam, daß erst nach langem Suchen mit Hilfe der „dicken Tropfen"-Methode hin und wieder ein einzelner Parasit zu finden war. Somit war es mir leider unmöglich, meine Versuche, die doch gerade beim Trypanosoma theileri sehr aussichtsvoll schienen, nach dieser Richtung hin weiter fortzusetzen.

Da nun von den Kulturflagellaten bekannt war, daß sie sich in den Kulturen sowohl vermehren als auch lange Zeit halten, so beschickte ich am 12. März 54 Reagensröhrchen, die etwa 5—6 ccm sterile Rinderbouillon enthielten, mit je 2 ccm defibrinierten Blutes der Kuh Laura aus dem Rassestalle der Königl. Tierärztlichen Hochschule, die nachgewiesenermaßen Kulturflagellaten beherbergte. Die Röhrchen wurden bei Zimmertemperatur aufbewahrt. Schon am 20. März zeigte sich eine große Anzahl derselben positiv. Leider aber erfolgte nun keine so starke Vermehrung der Flagellaten, daß diese Parasiten sich zu Versuchen mit der Feuchtkammer besonders eigneten. Am 29. April wurden dann nochmals 20 Rinderbouillonröhrchen mit 2—3 ccm defibrinierten Blutes der Kuh Laura beschickt, nachdem ein Versuch mit dem Blute einer anderen Kuh mißlungen war. In fast allen Röhrchen fanden sich nach Verlauf von 6—7 Tagen Kulturflagellaten in reichlicher Anzahl[1]).

Bei allen diesen Versuchen ist es mir nur ein einziges Mal gelungen, und zwar nach der von mir abgeänderten Feuchtkammermethode, einen Vorgang zu beobachten, den man vielleicht als Teilung auffassen kann. Aber schon nach 4 Stunden war der Tropfen so weit ausgelaufen, daß der Flagellat, wahrscheinlich aus Mangel an Flüssigkeit, bewegungslos geworden war. Die längste Zeit, die ich einen Flagellaten im hängenden Tropfen beweglich gesehen habe, betrug 17 Stunden. Immerhin war dies jedoch ein größerer Tropfen, in dem sich mehrere Parasiten befanden, von denen nur einer so lange Zeit bewegungsfähig blieb.

Als ich dann aber zu Versuchen mit Kapillaren überging, wurden sehr schnell günstigere Resultate erzielt. Am 8. April vormittags saugte ich in einer Kapillare Bouillon auf, mit der einige Oesen flagellatenhaltiger Blutbouillon gemischt waren. Die Kapillare wurde mit Leitzschem Deckglaskitt fest verschlossen und zeigte bei der mikroskopischen Untersuchung etwa 6—8 Flagellaten, die mit der Geißel lebhafte Bewegungen ausführten. Bei der Untersuchung am nächsten Tage waren alle Parasiten noch lebhaft beweglich; bei der Untersuchung am 10. April ergab sich dasselbe Bild. Auch noch am 11. April waren die meisten Individuen in lebhafter Bewegung. Am Vormittage des 12. April traf ich noch drei lebende Flagellaten an; erst bei der Untersuchung am 14. April fand ich kein bewegliches Exemplar mehr vor. Somit hatten die widerstandsfähigeren Kulturflagellaten mindestens 4 Tage in der Kapillare zu leben vermocht. Diesen Versuch habe ich noch einige Male mit nur einem Flagellaten in der Kapillare wiederholt; dabei bewegten sich die Geißeln noch am 2. Tage, am 3. Tage waren sie meist unbeweglich. Nur einmal konnte ich beobachten, daß ein einzelner Flagellat 3 Tage lang beweglich blieb. Waren dagegen mehrere in einer Kapillare, so lebten einige regelmäßig länger als 3 Tage.

1) Für die Erlaubnis zur Blutentnahme von den Kühen des Rassestalles sei Herrn Geh. Regierungsrat Prof. Dr. Eggeling auch an dieser Stelle bestens gedankt.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:00 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Auffallend war bei diesen Versuchen wieder, daß keinerlei Teilungs- oder Vermehrungsvorgänge zu beobachten waren. Die verwendeten Kulturen waren allerdings schon 4—6 Wochen alt, da erst nach 17 bis 20 Tagen genügend Flagellaten in den Kulturen vorhanden waren, um erfolgreich arbeiten zu können. Das Fehlen von Teilungsvorgängen in meinen Kapillarversuchen ist nun vielleicht so zu erklären, daß um diese Zeit eine weitere Vermehrung der Flagellaten in den Kulturen nicht mehr stattfindet. Jüngere Kulturen dürften sich für diese Beobachtung also besser eignen. Bei dem von mir in der Feuchtkammer einmal beobachteten Teilungsvorgange war die Kultur tatsächlich auch nur 8 Tage alt, nämlich am 29. April angelegt und am 6. Mai beobachtet.

Aber weder früher noch später ist es mir gelungen, von so jungen Kulturen bei genügender Verdünnung weder in der Feuchtkammer noch in der Kapillare einen einzelnen Flagellaten zu isolieren.

Gewinnung von Subkulturen, von einem Trypanosoma ausgehend.

Schließlich wurde noch der Versuch gemacht, mit einem in einer Kapillare isolierten Kulturflagellaten eine Subkultur anzulegen. Zu diesem Zwecke beschaffte ich mir einige Röhrchen mit etwa 5—6 ccm steriler Rinderbouillon, zu der je 1 ccm sterilen defibrinierten Rinderblutes zugesetzt wurde. Dann ließ ich das Stückchen Kapillare, in dem sich ein isolierter Flagellat befand, in dieses Röhrchen hineinfallen. Am 5. April hatte ich auf diese Weise 3 Röhrchen beimpft, ferner am 12. und 14. April noch je ein Röhrchen. Von den 5 auf diese Weise angelegten Kulturen waren zwei bald mit Bakterien verunreinigt, was ja bei der umständlichen Arbeitsmethode erklärlich ist. Die 3 steril gebliebenen Röhrchen ließ ich längere Zeit ganz ruhig stehen. Erst am 21. April wurden dann diese 3 Reagensröhrchen untersucht, ohne eine Spur von Flagellaten zu ergeben. Die Untersuchung am 29. April hatte dasselbe Resultat, so daß ich die Beobachtung aufgab. Auch hier war die verwendete Kultur über 3 Wochen alt, so daß der Mißerfolg möglicherweise auf dieselben Umstände zurückzuführen ist wie oben. Mehrfache Wiederholung dieser Versuche mit jugendlichen Kulturflagellaten mißlang stets, da zu dieser Zeit die Zahl der Flagellaten in den Kulturen noch zu gering war.

Infektionsversuche an Rindern mit je einem Trypanosoma theileri oder je einem Kulturflagellaten.

Leider war es mir nicht möglich, mit diesen wenig pathogenen Trypanosomen auch Tierversuche anzustellen, da hierfür nur Rinder oder Kälber in Betracht kamen. Diese standen mir jedoch nicht zur Verfügung. Ohne Frage wäre es von Interesse, zu erfahren, ob ein einzelnes Trypanosoma theileri imstande ist, bei einem Kalbe eine Infektion hervorzurufen.

Was die Kulturflagellaten anbetrifft, so erübrigte sich ein Versuch nach dieser Richtung, da bereits Ferber[1]) in der Tropenabteilung des

1) Ferber, F., Beiträge zur Biologie der nur auf kulturellem Wege nachweisbaren Flagellaten des Rinderblutes. Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. 76. 1913.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:00 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

hiesigen Institutes festgestellt hatte, daß die Kulturflagellaten sich nicht auf Kälber oder Rinder übertragen lassen, selbst wenn auch große Mengen derartiger Kulturen zur Impfung verwendet werden.

Zusammenfassung.

Die Ergebnisse meiner Arbeit möchte ich kurz dahin zusammenfassen:

1) Die Isolierung von Trypanosomen im Sinne von W. Kolle läßt sich sowohl durch die Tröpfchenmethode nach Lindner, als auch mittels Kapillaren erzielen.

2) Die künstliche Infektion von Mäusen gelingt mit einem einzigen Exemplar sowohl des Trypanosoma brucei als auch des Trypanosoma equiperdum.

3) Als Verdünnungsflüssigkeit zum Zwecke der Isolierung eignet sich am besten Serum.

4) Die Isolierung der pathogenen Trypanosomen (Trypanosoma brucei und Trypanosoma equiperdum) gelingt leichter als die des Trypanosoma theileri und der sogenannten Kulturflagellaten aus dem Rinderblute, da letztere beide verhältnismäßig nur spärlich auftreten. Trotz genügender Verdünnung wird nämlich die mikroskopische Beobachtung durch die gleichzeitig vorhandenen roten Blutkörperchen sehr erschwert.

5) Das einzelne Trypanosoma läßt sich nach den beiden oben erwähnten Methoden leicht längere Zeit mikroskopisch beobachten.

Literaturverzeichnis.

1) Behn, Paul, Gehen die bei Rindern kulturell nachweisbaren Flagellaten aus Trypanosomen hervor? (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 70. 1911. p. 371—408.)
2) Doflein, F., Studien zur Naturgeschichte der Protozoen. VI. Experimentelle Studien über die Trypanosomen des Frosches. (Arch. f. Protistenk. Bd. 19. 1910. p. 207—231.)
3) Frosch, P., Beitrag zur Biologie saprophytischer Amöben. (Zeitschr. f. Krebsforsch. Bd. 8. 1909. H. 2.)
4) Jürgens, Beitrag zur Biologie der Rattentrypanosomen. (Arch. f. Hyg. Bd. 17. p. 265—288.)
5) Kolle, W., Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Beih. p. 24.
6) Lindner, Mikroskopische Betriebskontrolle in den Gärungsgewerben. 5. Aufl. Berlin 1909. p. 230.
7) Mayer, Martin, Ueber ein Halteridium und Leukocytozoon des Waldkauzes und deren Weiterentwickelung in Stechmücken. (Arch. f. Protistenk. Bd. 21. 1911. p. 232—253.)
8) Noeller, W., Die Blutprotozoen des Wasserfrosches und ihre Uebertragung. (Arch, f. Protistenk. Bd. 31. 1913. p. 169—240.)
9) Oehler, R., Ueber die Gewinnung reiner Trypanosomenstämme durch Einzellenübertragung. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 67. 1913. p. 569—571.)
10) —, Zur Gewinnung reiner Trypanosomentsämme. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 70. 1913. p. 110—111.)
11) Ogawa, M., Studien über die Trypanosomen des Frosches. (Arch. f. Protistenk. Bd. 29. p. 248—258.)
12) v. Prowazek, S., Ueber reine Trypanosomenstämme. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 68. H. 5—6.)

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:00 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

13) Rabinowitsch, Lydia u. Kempner, Walter, Beitrag zur Kenntnis der Blutparasiten, speziell der Rattentrypanosomen. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 30. 1899. p. 251—294.)
14) Schuberg, A. u. Böing, W., Ueber den Weg der Infektion bei Trypanosomen- und Spirochätenerkrankungen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 57. Beih. p. 226—230.)
15) v. Schuckmann, W., u. Wernicke, K., Einiges über Methoden und Ergebnisse der Trypanosomenzüchtung. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 68. p. 241—255.)

Inhalt.

Bessau, Georg, Zur Kritik der Friedbergerschen Anschauungen über die Doppelfunktion des Ambozeptors, p. 181.
Ciaccia, Matteo, Pathologisch-anatomische Beobachtungen über einige Fälle von Cholera asiatica, p. 161.
Donges, Ueber polyvalente Typhussera mit Beziehung zur Agglutination und Bakterizidie in vitro, p. 188.
Grote, L. R., Zur Kritik der Säureausflockung nach Michaelis, p. 202.
Henningfeld, Fr., Ueber die Isolierung einzelner Trypanosomen, p. 228.
Michin, N., Ueber die Serodiagnose der Rotzkrankheit mittels der Konglutininreaktion, p. 223.
Reichstein, Stefanie, Ueber den Nachweis der Streptokokken im strömenden Blute, p. 209.
Rotky, Karl, Ueber die Wirkung von Saponin als Zusatz zu Desinfektionsmitteln, p. 195.
Russ, V. K., Beobachtungen über das epidemische Auftreten von Darmkatarrhen und Typhus abdominalis, p. 169.

Die Redaktion des „Centralblatts für Bakteriologie und Parasitenkunde" richtet an die Herren Mitarbeiter die ergebene Bitte, etwaige Wünsche um Lieferung von besonderen Abdrücken ihrer Aufsätze entweder bei der Einsendung der Abhandlungen an die Redaktion auf das Manuskript schreiben zu wollen oder spätestens nach Empfang der ersten Korrekturabzüge direkt an den Verleger, Herrn Gustav Fischer in Jena, gelangen zu lassen.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:00 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Centralbl. f. Bakt. etc. I. Abt. Originale. Bd. 73. Heft 4/5.
Ausgegeben am 30. März 1914.

Nachdruck verboten.

Ueber Vererbung und Variabilität bei Bakterien mit besonderer Berücksichtigung der Virulenz.

[Aus der mediz. Klinik Erlangen (Direktor: Geh. Hofrat Penzoldt).]

Von Dr. **Erich Toenniessen,** Oberarzt der Klinik.

Mit 2 Tafeln.

Die vorliegenden Untersuchungen beschäftigen sich in ihrem ersten Teil mit den Vorgängen der Vererbung und Variabilität bei Bakterien. Sie sind in dieser Beziehung eine Ergänzung zu früheren Arbeiten über die Mutation und behandeln die neben der Mutation vorkommenden Formen der Variabilität, nämlich die Modifikation und Fluktuation sowie die Erscheinungen der Vererbung in ihren experimentell zu beherrschenden Gesetzmäßigkeiten. Es ließ sich zeigen, daß die möglichen Formen der nicht-erblichen und erblichen Variabilität an einer einzigen Art mit experimenteller Sicherheit herbeizuführen sind, und daß die Eigentümlichkeiten der einzelnen Variationsformen durch ihre Gegensätze besonders klar hervortreten.

Der zweite Teil befaßt sich mit dem Nachweis, daß die Virulenz der Bakterien ebenso gut wie andere, genau wahrnehmbare Eigenschaften den Gesetzen der Vererbung und Variabilität unterworfen ist, und daß der Grad der Virulenz in erblicher oder nicht-erblicher Weise durch bekannte äußere Einflüsse sich beherrschen läßt.

I. Teil.

Ueber Vererbung und Variabilität.

Bevor ich zur Schilderung der experimentellen Befunde übergehe, möchte ich einige Grundbegriffe vorausschicken, soweit sie zum Verständnis der gefundenen Tatsachen unbedingt nötig und durch die bisherige Forschung gut gestützt sind. Was von der allgemeinen Biologie lediglich für die Mutationserscheinungen in Betracht kommt, habe ich schon früher kurz zusammengefaßt. Es hat sich an diesen Begriffen nichts wesentliches seitdem verändert. Doch ist sowohl durch die in letzter Zeit erschienenen größeren Werke anderer Autoren, als auch durch die Fortsetzung eigener Studien und besonders durch die eingehende Beobachtung der anderen Variationsformen manches neue hinzugekommen, so daß ich es für angezeigt halte, die nötigen Grundlagen der Erblichkeitsforschung noch einmal im Zusammenhang zu besprechen. Wenn sich dabei eine gewisse Ausführlichkeit nicht vermeiden läßt, so ist dies dadurch begründet, daß in dem verhältnismäßig jungen Gebiet der Vererbungsforschung die Ansichten weit auseinander gehen und noch wenige Begriffe anerkanntes Allgemeingut geworden sind. Es ist deshalb nötig, daß jeder Autor seine Ansicht nach Möglichkeit begründet, da sonst allein schon durch die nicht einheitliche Nomenklatur Verwirrung angerichtet wird. Auch ist die folgende Zusammenstellung der allgemeinen

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:01 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Grundbegriffe nicht lediglich eine Uebersicht über schon Bekanntes, sondern zum großen Teil ein Resultat eigener, noch nicht mitgeteilter Befunde.

Der Artbegriff. Die „reine Linie". Die Vererbungsforschung befaßt sich mit der Beständigkeit und Veränderlichkeit der Arten. Eine sogenannte Art von Lebewesen ist also das Ausgangsmaterial des Experimentes, der Artbegriff zunächst die Grundlage für das Verständnis der experimentellen Fragestellung. Wenn wir uns über den Artbegriff klar werden wollen, müssen wir zunächst zweierlei Artbegriffe unterscheiden, nämlich den mehr praktischen Begriff der systematischen und den mehr theoretischen der natürlichen Art. Die Systematik kommt hauptsächlich dem praktischen Bedürfnis nach, eine Uebersicht in die unzähligen verschiedenen Formen der Lebewesen zu bringen. Sie faßt den Artbegriff morphologisch-physiologisch und bezeichnet — wobei ich mich besonders an Plates Definition halte — als Art jede Vielheit von Individuen, die in ihren sichtbaren Eigenschaften innerhalb eines gewissen Spielraumes gleich sind, sich untereinander fortpflanzen und deren Nachkommen wiederum in einem gewissen Spielraum die gleichen Eigenschaften wie die Eltern besitzen. Der Begriff der natürlichen Art dagegen ist ein genetischer und in der Deszendenztheorie begründet. Wir nehmen an, daß die jetzigen Arten sich aus anderen Arten, sog. Vorstufen, entwickelt haben, und zwar, daß verwandte Arten aus gemeinsamen Vorstufen entstanden sind. Wir bezeichnen demnach als natürliche Art jede Generationsfolge von Individuen, die sich früher oder später von einer solchen gemeinsamen Vorstufe abgespalten und eine selbständige Entwicklungsrichtung eingeschlagen hat — oder kürzer gesagt: eine genetische Einheit von Individuen. Es ist ohne weiteres einleuchtend, daß als Endprodukte der phylogenetischen Entwicklung unter dem Einfluß ähnlicher Außenbedingungen viele äußerst ähnliche natürliche Arten entstehen konnten, welche dem systematischen Begriff einer einzigen Art entsprechen. Die systematische Art schließt also, wie besonders de Vries und Johannsen betont haben, ein Gemenge natürlicher Arten ein. Sie stellt eine Kollektivart dar, deren Abgrenzung gegen andere Arten ohne eine gewisse Willkür gar nicht möglich ist.

Bei sexuell sich fortpflanzenden Arten wird der Artbegriff noch weiter kompliziert durch die Möglichkeit der Kreuzung mit verwandten, natürlichen Arten; die Generationsfolge bleibt also nicht einheitlich in sich geschlossen, und es kommt dadurch zur Entstehung komplizierter Polyhybride. Der Artbegriff läßt sich hier also auch durch Verwendung deszendenztheoretischer Gesichtspunkte nicht scharf umgrenzen [Plate (38)], so daß er bei vielen höheren Arten nur systematisch, im Sinne Plates, noch am schärfsten zu präzisieren ist. Bei den asexuellen Arten, wie den Bakterien, läßt sich dagegen der Begriff der natürlichen Art aufrecht erhalten: denn bei diesen ist eine Kreuzung verwandter Arten ausgeschlossen und die natürlichen Arten bleiben vom Zeitpunkt ihrer Entstehung an in sich geschlossen. Eine natürliche Art von Bakterien ist demnach jede genetische Einheit von Individuen.

Die Wichtigkeit des Artbegriffes für die Variabilitäts- und Vererbungsforschung ergibt sich leicht. Die Erkenntnis, daß die Arten der Systematik zum mindesten ein Gemenge vieler natürlicher Arten, bei den sexuellen Arten oft sogar eine außerordentlich komplizierte Kreuzung natürlicher Arten enthalten, ist für die Beurteilung der experimentellen Variabilität von fundamentaler Bedeutung. Denn es ist klar, daß wir

Generated on 2019-09-15 15:01 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

zum Studium der Veränderlichkeit einer Art erblich einheitliches Material verwenden müssen, da sonst eine anscheinend experimentell erzielte Veränderung durch Eigenschaften einer anderen beigemischten Art (bei Bakterien durch eine sogenannte „Verunreinigung" der Kultur) oder bei den Polyhybriden der höheren Arten auf Vererbung kombinierter Eigenschaften (den Mendelschen Gesetzen entsprechend) beruhen kann. Die erste Aufgabe vor Anstellung von Versuchen ist also die Gewinnung erblich einheitlichen Materials. Wie dies bei höheren Arten erreicht wird, braucht hier nicht erörtert zu werden. Bei Bakterien erhalten wir erblich einheitliches Material relativ einfach dadurch, daß wir uns eine Reinkultur herstellen. Dies gelingt durch das Burrische Tuscheverfahren oder mit genügender Sicherheit durch wiederholte Plattenisolierungen [Eisenberg (20), Baerthlein (19)]. Eine solche Kultur entspricht dem von Johannsen (10) aufgestellten Begriff der „reinen Linie": „eine reine Linie ist der Inbegriff aller Individuen, welche von einem einzelnen, absolut selbst befruchtenden, homocygotischen Individuum abstammen" (homocygotisch, d. h. nicht durch Vereinigung ungleichartiger Eltern, bzw. deren Keimzellen entstanden).

Ich bin auf die Kompliziertheit des Artbegriffes näher eingegangen, um auf die Bedeutung der reinen Linie für die Erblichkeitsforschung hinzuweisen. Wenn auch bei den höheren Tieren (speziell beim Menschen) das Arbeiten mit reinen Linien selten bzw. nie möglich ist, da es sich um komplizierte Polyhybride handelt, so ist doch, wie Johannsen (10) sagt, nicht zu leugnen, „daß das Verhalten reiner Linien die erste Grundlage für die Erblichkeitslehre sein muß". Ich werde deshalb auch in folgendem bemüht sein, meine Versuche, die an einer reinen Linie, und zwar an Bakterien, angestellt sind, auf eine allgemein biologische Grundlage zu stellen.

Vererbung und Variabilität. Wir wenden uns jetzt zu den allgemeinen Tatsachen der Variabilität und Vererbung sowie zu den darauf gestützten Anschauungen über das Wesen dieser Vorgänge. Die Beobachtung zeigt uns, daß die Arten unter natürlichen Bedingungen und auch unter den Bedingungen des Experimentes, wenn sie den natürlichen entsprechen, zwar stets eine gewisse Variabilität zeigen, daß aber die Beständigkeit der Artmerkmale die Variabilität auffallend überwiegt. Ohne diese Beständigkeit wäre auch der Versuch, einen Artbegriff aufzustellen, vollkommen unmöglich. Nicht nur die Individuen der gleichen Generation, sondern auch die Individuen verschiedener Generationen besitzen innerhalb eines gewissen Spielraumes die gleichen Eigenschaften. Wir müssen demnach annehmen, daß die Artmerkmale durch irgendeine, allen Individuen der Art gemeinsame, innere Ursache fixiert sind und bei der Fortpflanzung von den Eltern durch die gleiche Ursache auf die Nachkommen übertragen werden. Die Artmerkmale werden „vererbt". Diese Vererbung geschieht bei den sexuellen Lebewesen durch Vermittelung der Keimzellen, bei den asexuellen durch das Soma der Eltern anscheinend unmittelbar (cf. später), oder ganz allgemein gesagt: durch eine „Vererbungssubstanz". Nägeli (2) hat für diese Substanz die Bezeichnung Idioplasma eingeführt. Das Idioplasma enthält nach ihm sämtliche Artmerkmale in sich fixiert, ist für die Gestaltung aller Individuen der Art maßgebend und überträgt die Artmerkmale auf die Nachkommen. Weismann (6) hat im Anschluß an den von ihm geschaffenen Unterschied zwischen Soma und Keimzellen die Vererbungssubstanz Keimplasma genannt und zunächst angenommen, daß das

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:01 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Keimplasma nur in den Keimzellen vorhanden sei. Auf der Kontinuität des Keimplasmas beruht nach Weismann die Beständigkeit der Arten.

In der neueren Vererbungsforschung ist die Bezeichnung Idioplasma weniger gebräuchlich und meist durch die Weismannsche Bezeichnung Keimplasma ersetzt worden. In meiner Abhandlung über die Mutation der Bakterien habe ich stets das Wort Idioplasma verwendet und nicht gewagt, den Begriff des Keimplasmas auf die Vererbungssubstanz der Bakterien zu übertragen. Auf Grund neuerer Befunde müssen wir jedoch annehmen, daß zwischen den sexuellen Lebewesen mit differenzierten Keimzellen und den asexuellen, z. B. den Bakterien ohne differenzierte Keimzellen hinsichtlich der Zusammensetzung aus Soma und Keimplasma ein prinzipieller Unterschied nicht vorliegt. Denn erstens besitzen die sexuellen Lebewesen trotz ihrer differenzierten Keimbahn auch in ihren Körperzellen, d. h. in ihrem Soma Keimplasma (Roux, 12), so daß man ein generatives und somatisches Keimplasma unterscheiden muß (wie jetzt auch Weismann zugibt); andererseits kommt, wie neuere Untersuchungen besonders Swellengrebels (39) zeigen, auch bei den Bakterien (zunächst bei Sporenbildnern, nämlich Milzbrand, nachgewiesen) für die Fortpflanzung nicht das ganze Soma der Elternzelle in Betracht, sondern nur ein vom Cytoplasma und dem zentralen Chromatinfaden sich abtrennender Teil, und zwar wird ein Teil der Vererbungssubstanz zur Sporenbildung verwendet — er ist gewissermaßen morphologisch differenziertes Keimplasma — ein anderer Teil bleibt im Soma zurück und kann durch Teilung des Somas zur Vererbung führen; er ist das Analogon zum somatischen Keimplasma der Lebewesen mit differenzierter Keimbahn. Es handelt sich hier um einen graduellen Unterschied, und man könnte meines Erachtens auch bei den Bakterien den Begriff des Keimplasmas den Vererbungsvorgängen unbedenklich zugrunde legen. Doch möchte ich zunächst die Benennung Idioplasma beibehalten, da sie allgemeiner ist und außerdem die Arteigentümlichkeit besser betont als das Wort Keimplasma.

Das Idioplasma enthält die Artmerkmale nicht als solche fertig ausgebildet, sondern in irgendeiner anderen Weise ursächlich fixiert. Wir nehmen an, daß die Artmerkmale als „Anlagen“ in der Vererbungssubstanz enthalten sind, und zwar, daß den einzelnen Artmerkmalen bestimmte Anlagen entsprechen. Der Begründer dieser Theorie, welche grundlegend für die Vererbungsforschung wurde, ist Darwin (Pangenesistheorie). Durch die Mendelschen Forschungen hat die Darwinsche Theorie eine glänzende Bestätigung gefunden, und wir können es jetzt als eine sicher fundamentierte Grundanschauung für die Vererbungsforschung betrachten, daß die einzelnen Artmerkmale bestimmten Anlagen entsprechen und also die Vererbungssubstanz aus einzelnen Erbeinheiten [Baur (11)] zusammengesetzt ist, welche eine beträchtliche Selbständigkeit besitzen und bei Kreuzungen sogar selbständig abgespalten werden können. Natürlich können wir uns keine bestimmte Vorstellung über die Struktur dieser Anlagen machen: aber die Annahme substantiell bedingter Erbeinheiten erscheint begründet. Lediglich eine „Fähigkeit“ der Vererbungssubstanz zur Bildung der Artmerkmale anzunehmen, ist etwas Selbstverständliches und keine Erklärung, wie auch Plate (8) sagt. Im Laufe der Forschung sind für die „Anlagen“ mehrere Namen geprägt worden: Gene [Johannsen (10)], Erbeinheiten [Baur (11)], Faktoren [Plate (8)], Pangene [Darwin (1), de Vries (3)].

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:01 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Die Anlagen sind also die Ursache für das Auftreten der einzelnen Artmerkmale in den Nachkommen. Die Umwandlung in die fertigen Artmerkmale erfolgt aus inneren Gründen, nämlich aus der Tendenz der Anlagen, sich in „normaler" Weise zu entwickeln; denn die Artmerkmale werden aus den Anlagen in ihrer späteren Form schon angelegt, bevor sie durch adäquate äußere Reize hervorgerufen sein können [O. Hertwig (4)]. Dieses Beharrungsvermögen der Anlagen muß als die Ursache der Vererbung angesehen werden.

Durch Einwirkung äußerer und innerer Natur kann aber die Entwickelung der Anlagen beeinflußt werden, sobald die Stärke des einwirkenden Reizes das Beharrungsvermögen der Anlagen übertrifft. Die Entfaltung der Anlagen kann gefördert oder gehemmt, eventuell vollkommen unterdrückt und auch in ihrer Richtung modifiziert werden. Es sind demnach bei der Entfaltung der Anlagen neben der Vererbungstendenz innere und äußere Faktoren von Bedeutung. Auch kann ein vollständiger Verlust oder ein Gewinn von Anlagen eintreten. Diese Reaktionsfähigkeit des Idioplasmas auf äußere und innere Reize ist die Grundbedingung für die Variabilität.

Umbildung der Arten und deren Ursachen. Hieraus ergibt sich die Bedeutung der Variabilität für die Artbeständigkeit und Artumbildung. Das Verdienst, den Vorgang der Artumbildung der experimentellen Forschung zugänglich gemacht zu haben, gebührt H. de Vries (3). Die einzelnen Artmerkmale sind für die Erblichkeitsforschung Gegenstand der Beobachtung; sie sind als scharf umschriebene Einheiten zu betrachten. Nach de Vries nehmen wir an, daß sich eine Art von der anderen durch mindestens eine solche Einheit unterscheidet. Wenn also eine Art in eine andere übergeht, so muß sie für unser Wahrnehmungsvermögen eine neue Eigenschaft gewinnen, die einer neuen Anlage in der Vererbungssubstanz entspricht. Denn eine neu auftretende, sichtbare Eigenschaft gewinnt nur dadurch Beständigkeit und Artcharakter, daß sie im Idioplasma als Anlage fixiert wird.

Wie wir uns diesen Vorgang im einzelnen vorstellen, ist meines Erachtens reine Hypothese. Daß ein Reiz zunächst bloß das Soma trifft und in ihm eine Veränderung hervorruft, welche erst sekundär auf das Keimplasma in gleichsinniger Weise übertragen wird, die sogenannte somatische Induktion, erscheint als das wahrscheinlichste, ist aber experimentell nicht zu beweisen; denn auch die Zellen des Somas enthalten Keimplasma, und es kann in keinem Falle ausgeschlossen werden, daß dieses somatische Keimplasma gleichzeitig mit den Zellen des Somas verändert wird (Parallelinduktion) und die Veränderung irgendwie auf das generative Keimplasma überträgt. Auf jeden Fall müssen wir annehmen, daß der Vorgang der Artumbildung für unsere Beobachtung eingeleitet wird durch eine zunächst am Soma wahrnehmbare, neue Eigenschaft und zu Ende geführt wird durch Fixierung dieser neuen Eigenschaft in der Vererbungssubstanz.

Die Frage nach den Ursachen der Artumbildung, d. h. der Entstehung neuer Erbeinheiten, ist für das Verständnis der Variabilitätserscheinungen von ausschlaggebender Bedeutung. Die experimentelle Variabilität wird durch bekannte äußere Ursachen herbeigeführt. Wollen wir entscheiden, ob experimentell eine Artumbildung bei kritischer Betrachtung überhaupt möglich erscheint, so müssen wir uns über die Rolle der äußeren Faktoren bei dem Gewinn neuer Erbeinheiten klar werden, soweit dies auf Grund der bisher bekannten Tatsachen möglich ist. Die Beobachtung zeigt uns zunächst, daß die jetzt vorhandenen Artmerkmale deutliche Beziehungen zu adäquaten Reizen aufweisen. Der Bau der Sehorgane z. B. wäre ohne den Einfluß von Lichtstrahlen unverständlich. Die Entstehung der Organe setzt aber eine in der lebenden Substanz selbst enthaltene Fähigkeit voraus, nämlich die Fähigkeit,

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:01 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

auf äußere Reize zu reagieren und sich in Anpassung an äußere Reize unter Gewinn neuer Funktionen, also für unsere Wahrnehmung im Sinne eines Fortschrittes, zu differenzieren. Wenn also von zwei, anscheinend ganz gleichen natürlichen Arten durch irgendeinen Reiz nur die eine Art eine neue, erbliche Eigenschaft gewinnt, so muß sich diese Art schon vor dem sichtbären Gewinn der neuen Eigenschaft qualitativ in ihrer Idioplasmakonstitution von der anderen Art unterschieden haben.

Die Grundbedingung für die Erwerbung einer neuen Eigenschaft suchen wir also, da sich wirklich neue Eigenschaften nicht lediglich durch äußere Reize bewirken lassen, in einer inneren Fähigkeit und Tendenz der lebenden Substanz zur weiteren Entwickelung. Diese Annahme, das Nägelische Prinzip der Progression (2), scheint mir die natürlichste, von Voraussetzungen freieste Erklärung für die Fortentwickelung der Arten zu sein; das Nägelische Prinzip enthält keinen mystischen, teleologischen Begriff [wie auch O. Hertwig (4), R. Hertwig (5) betonen], sondern sucht die Entstehung der Arten physikalisch-chemisch zu erklären. Danach ist die für uns im Sinne eines Fortschrittes erfolgende Differenzierung der Lebewesen zu immer komplizierteren Arten zurückzuführen auf die Abwickelung einer potentiellen, physikalisch-chemischen Energie eventuell mit Beimischung uns noch unbekannter, aber kaum den Lebewesen allein zukommender Energieformen, welche der lebenden Substanz schon bei ihrer Entstehung innewohnte und die auf das engste schon mit der Entstehung der lebenden Substanz aus anorganischen Vorstufen verknüpft war. Die Quelle dieser Energie ist der Forschung unbekannt und wohl zunächst auch unzugänglich, ebenso wie die Entstehung der lebenden Substanz auch.

Neben dieser inneren Entwickelungstendenz spielen aber bei dem Gewinn neuer Eigenschaften äußere Reize eine wichtige Rolle. Denn die morphologische und funktionelle Entwicklung der Organe ist durch die Eigenschaften der adäquaten Reize, beim Auge z. B. durch optische Gesetze, bestimmt. Man sieht also, daß äußere Faktoren bei der Erwerbung neuer Eigenschaften unbedingt nötig sind, auch wenn sie diese Eigenschaften nicht unmittelbar hervorrufen, sondern nur in ihrer Ausgestaltung modifizieren.

Auch die Selektion und die Bastardierung kann an sich keine neuen Erbeinheiten hervorrufen, wenn auch die Entstehung neuer Erbeinheiten durch Selektion und Bastardierung begünstigt werden kann. Die Entstehung einer neuen Eigenschaft vollzieht sich demgemäß auf Grund einer inneren Fähigkeit unter steter Abhängigkeit von äußeren Reizen und dem jeweils erreichten inneren Zustand. Dieser ist wohl durch Selektion und Bastardierung beeinflußbar.

Wenn wir also eine Vererbung erworbener Eigenschaften (als erworbene Eigenschaft wird dabei jede früher nicht vorhandene Eigenschaft betrachtet, nicht aber die durch absichtlichen Gebrauch erworbenen Eigenschaften) als eine Grundbedingung für die Umbildung und den Fortschritt der Arten voraussetzen müssen, so gilt dies nur für solche Eigenschaften, die zwar in Anpassung an äußere Faktoren, aber auf Grund innerer Fähigkeiten entstanden sind, nicht aber für solche Eigenschaften und Veränderungen, die beliebig durch äußere Reize allein bewirkt werden können.

Daraus geht hervor, daß wir durch äußere Reize nur dann eine neue erbliche Eigenschaft hervorrufen können, wenn wir durch den äußeren Reiz eine noch ungeweckte, adäquate Differenzierungsfähigkeit des Idioplasmas treffen.

Es erscheint auf Grund dieser Ueberlegung außerordentlich erschwert, experimentell eine neue erbliche Eigenschaft zu erzielen. Die äußeren Reize, wie sie jetzt auf die Lebewesen einwirken, sind sich seit langen Zeiträumen, die weit den Bereich der experimentellen Forschung überragen, gleich geblieben. Soweit also eine Differenzierungsfähigkeit unter Anpassung an die jetzigen Reize möglich war, ist sie entweder schon zu dem ihr möglichen Ende gekommen oder schreitet für unser Wahrnehmungsvermögen unmerklich langsam weiter. Die Anwendung eines absolut neuen Reizes zur Erzielung einer neuen Eigenschaft stößt deshalb auf große Schwierigkeiten und erscheint fast erfolglos, da solche absolut neuen Reize einen gewaltsamen Eingriff in die bisherigen Existenzbedingungen darstellen und nur zur vorübergehenden Verzerrung des

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:01 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Artbildes, meist unter Schädigung, führen. Ich persönlich erachte den experimentellen Beweis für die Vererbung einer neuen, erworbenen Eigenschaft sowohl auf Grund vorstehender Ueberlegungen als auch der bisher beschriebenen sogenannten Mutationen für nicht erbracht, wenn ich auch die Möglichkeit dieses Beweises nicht leugnen möchte.

Der Verlust schon vorhandener Anlagen scheint zunächst ebenso wie der Gewinn neuer Anlagen zu einer Artumbildung zu führen. Er läßt sich, wie sich in folgendem bei Schilderung der Fluktuation ergeben wird, experimentell erzielen. Vermutlich handelt es sich aber nur um eine quantitative Aenderung des Idioplasmas, d. h. um Verlust einer Anlage bei erhaltener Fähigkeit, diese Anlage wieder zu bilden. Eine solche Veränderung würde zunächst also nicht dazu berechtigen, eine wirkliche Artumbildung, d. h. eine qualitative Idioplasmaveränderung, anzunehmen, auch wenn sie bisher noch nicht wieder rückgängig gemacht werden konnte. Die Versuche hierüber sind noch nicht abgeschlossen. Es soll nur darauf hingewiesen werden, wie schwierig der Vorgang der Artumbildung trotz erblich anscheinend absolut konstanter Veränderungen experimentell festzustellen ist.

Grundformen der Variabilität[1]). Die Variabilität einer reinen Linie zeigt in der Art und Weise, wie sie äußerlich in Erscheinung tritt, regelmäßig wiederkehrende Gesetzmäßigkeiten, welche es ermöglichen, verschiedene Formen der Variabilität scharf voneinander zu trennen und die der sichtbaren Variation zugrunde liegende Veränderung des Idioplasmas zu analysieren. Zunächst könnte man versucht sein, die Variationen in erbliche und nicht-erbliche einzuteilen. Erblich wären dann nach der gebräuchlichen Definition diejenigen Abänderungen, welche ohne Fortdauer der verursachenden Bedingungen bestehen bleiben; nicht-erblich diejenigen, welche bei Fortfall der verursachenden Bedingungen mehr oder weniger rasch wieder verschwinden. Es wird sich aber aus den experimentellen Befunden ergeben, daß die Erblichkeit und Nichterblichkeit zur absoluten Trennung der Variationsformen unbrauchbar ist, da sich die verschiedenen Varianten nicht prinzipiell, sondern nur graduell hinsichtlich der Erblichkeit voneinander unterscheiden. Auf Grund der Erblichkeit wäre nur dann eine Einteilung möglich, wenn der Begriff der Erblichkeit strenger gefaßt würde als bisher. Man dürfte dann als erblich eine Variation nur bezeichnen, wenn die Abänderung des Idioplasmas nicht nur ohne Fortdauer der verändernden Reize bestehen bleibt, sondern sogar bei Einwirkung der in umgekehrter Richtung wirkenden Reize sich nicht in den früheren Zustand zurückverwandeln läßt. Doch möchte ich zunächst die schon in früheren Arbeiten verwendete Einteilung der Variabilität beibehalten, wobei ich mich fast wörtlich auf Früheres beziehen kann.

Beijerinck (18) gibt folgende Einteilung der Variabilität bei Mikroben: Modifikation, Fluktuation, Mutation und Kombination. Ich schließe mich dieser Einteilung im wesentlichen an, da sie alle Möglichkeiten erschöpft. Den Begriff der Modifikation und Fluktuation fasse ich allerdings anders als Beijerinck. Dies ist aber ohne Aenderung der von Beijerinck verwendeten Nomenklatur möglich, da diese Nomenklatur gar nicht von Beijerinck stammt und da die von früheren Autoren den betreffenden Benennungen zugrunde gelegten Begriffe besser

1) Zur Erklärung der Nomenklatur sei bemerkt: Die Fähigkeit einer reinen Linie, sich irgendwie zu verändern, heißt Variabilität oder Veränderlichkeit; der Vorgang der Veränderung im allgemeinen Variation (im speziellen Modifikation, Mutation usw.), die gegen den normalen Typus veränderte Form im allgemeinen Variante (z. B. Mutante, Fluktuante).

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:01 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

als die von Beijerinck eingeführten den experimentellen Tatsachen entsprechen. Ich möchte demnach folgende kurze Uebersicht über die einzelnen Variationsformen geben.

1) Die Modifikation: Unter dem Einfluß äußerer Bedingungen ändert sich eine sichtbare Eigenschaft und geht bei Wegfall dieser Bedingungen mehr oder weniger rasch wieder in den früheren Zustand zurück. Diese Veränderung entspricht der Fähigkeit einer Erbeinheit, auf verschiedene äußere Reize entsprechend zu reagieren, ohne sich selbst zu verändern. Die Reaktionsfähigkeit, welche für die Art charakteristisch ist, ändert sich dabei nicht (Baur, 11). Das Idioplasma wird von der Modifikation nicht ergriffen, die Modifikation ist also nicht erblich und führt nicht zur Ueberschreitung der Artgrenzen.

2) Die Mutation: Anscheinend spontan und plötzlich tritt im Verlauf einer bestimmten Kulturgeneration eine Veränderung auf, welche nur einen Teil der Nachkommen ergreift und in diesen bei weiterer Uebertragung keine Steigerung mehr erfährt. Je nachdem die Veränderung eine scheinbar neue Eigenschaft oder den Verlust einer schon vorhandenen Eigenschaft mit sich bringt, können wir zwischen progressiver und retrogressiver Mutation unterscheiden. Die retrogressive Mutation entspricht dem Latentwerden einer Anlage, die progressive dem Aktivwerden einer vorderen latenten Anlage. Die Veränderung ist erblich; nur unter gewissen Bedingungen treten Rückschläge in den Ausgangstypus auf, welche ebenso plötzlich verlaufen wie die ursprüngliche Mutation.

3) Die Fluktuation: In deutlicher Beziehung zu äußeren Einflüssen entsteht eine erbliche Veränderung einer Art. Die Fluktuation entspricht dem wirklichen Gewinn neuer oder dem Verlust vorhandener Artmerkmale. Den Gewinn von Artmerkmalen möchte ich als progressive Fluktuation bezeichnen. Diese entspricht dem phylogenetischen Fortschritt, ist aber experimentell bis jetzt nicht erzielt worden. Der Verlust von Artmerkmalen wäre dementsprechend eine retrogressive Fluktuation. Sie ist, wie sich zeigen wird, experimentell zu erzielen (wenigstens soweit in den Grenzen des Experimentes eine absolute Erblichkeit nachzuweisen ist), doch tritt sie nicht, wie Beijerinck annimmt und ich selbst auch früher in Anknüpfung an Beijerinck glaubte, bei einfacher Fortzüchtung der Bakterien in Massenkultur ein.

4) Die Kombination: Durch sexuelle Fortpflanzung zweier artverschiedener Eltern entsteht eine erbliche Verschiedenheit der Nachkommen gegenüber den Eltern. Diese durch Vermischung ungleicher Erbsubstanz entstandene Variation richtet sich nach den Mendelschen Gesetzen und stellt eine eigene Form der Variation dar. Zur Entstehung neuer Erbeinheiten führt sie unmittelbar nicht. Für Bakterien kommt sie, da sich diese asexuell fortpflanzen, nicht in Betracht.

Die ausführliche Begründung dieser Begriffe und der Nomenklatur, die zu einem nicht geringen Teil im Gegensatz zu den heutzutage meist üblichen stehen, wird an der Hand der Tatsachen erfolgen.

Experimentelle Befunde.

Ausgangsmaterial, Methodik der Versuche, Beurteilung der Befunde. Das Ausgangsmaterial der Versuche war ein Stamm des Friedländerschen Pneumoniebacillus, und zwar der gleiche Stamm, an dem die Mutationserscheinungen früher schon mitgeteilt wurden. Wie damals schon erwähnt, ist der Friedländersche Ba-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:01 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

cillus ein sehr geeignetes Bakterium zur Beobachtung sämtlicher Formen der Variabilität, und zwar aus dem Grunde, weil er auf allen Nährböden üppig gedeiht, lange lebensfähig bleibt, und weil sich die Veränderungen der einzelnen Individuen auch makroskopisch, d. h. im Aussehen der Kultur bemerkbar machen.

Veränderungen dieses Bakteriums wurden schon früher von Kruse (16) und Wilde (21) beschrieben. Diese Autoren stellten fest, daß man bei Aussaat von alten Kulturen auf Gelatineplatten neben den typischen Kolonien auch atypische, coliähnliche erhält (Wilde), sowie, daß alte Laboratoriumskulturen ihr Schleimbildungsvermögen verlieren, wobei die ursprünglich kurzen dicken Stäbchen schlank werden und sich von Colibacillen nicht mehr unterscheiden lassen (Kruse). Die Form der Variabilität konnte aber damals von den Verfassern noch nicht analysiert werden. In neuerer Zeit hat Baerthlein (19) in seinen Mitteilungen über Mutationserscheinungen kurz angegeben, daß er auch bei Kapselbacillen Mutationserscheinungen beobachtet hat. Nach den Mitteilungen Baerthleins hat auch Gildemeister ähnliche Beobachtungen gemacht.

Die Methodik der Versuche war eine denkbar einfache. Die Bedingungen der Vererbung und Variabilität wurden lediglich durch Anwendung praktisch in Betracht kommender Faktoren beobachtet. Der Bacillus wurde entweder im Tierkörper (Maus, Meerschweinchen, Kaninchen) oder auf den gebräuchlichen Nährböden, nämlich Bouillon und Agar gezüchtet. Die Zusammensetzung der Bouillon war folgende: Fleischwasser (bereitet aus 0,5 kg Fleisch und 1 Liter Wasser), Pepton 1 Proz., Kochsalz $^1/_2$ Proz.; die des Agars: Fleischwasser, Agar $1^1/_2$ Proz., Pepton 1 Proz., Kochsalz 0,5 Proz., Glyzerin 3 Proz. (cf. Heim, Lehrbuch der Bakteriologie). Jede zu Versuchen benutzte Kultur wurde natürlich von isolierten Kolonieen abgeimpft, um jedesmal mit Sicherheit eine reine Linie zu verwenden. Die Variationen wurden herbeigeführt durch die Einwirkung der künstlichen Kultivierung, indem die Uebertragungen verschieden oft und in verschieden großen Zwischenräumen vorgenommen wurden. Der Eintritt einer Variation läßt sich am besten dadurch feststellen, daß aus den Kulturen Agarplatten (Plattenguß) angelegt werden. Nur durch Isolierung der einzelnen Kolonieen gelingt es, alle Varianten mit Sicherheit zu gewinnen. Denn die Veränderungen betreffen nie alle Individuen gleichzeitig, sondern immer nur einen bestimmten Teil; die Varianten treten also in Form der Konvarianten, nicht der Devarianten (Plötz) auf. Durch Massenkulturen (Strichkulturen auf Schrägagar oder Bouillonkulturen) lassen sich deshalb die Varianten nur dann gewinnen, wenn sie gegen die normal gebliebenen Individuen in der Mehrzahl vorhanden sind. Solche Varianten dagegen, welche nur in sehr spärlicher Zahl auftreten, werden in Massenkulturen durch die große Menge der normal gebliebenen Individuen verdeckt. Die Gewinnung der Varianten hat demgemäß durch Selektion der aus isolierten Keimen gewachsenen Kolonieen zu erfolgen.

Die Beurteilung der gefundenen Variationsformen erfolgt durch Feststellung ihres Verhaltens hinsichtlich der Vererbungsfähigkeit. Es wird sich zeigen lassen, daß die Erblichkeit der einzelnen Variationen, besonders wenn der Begriff der Erblichkeit in der oben angegebenen strengeren Form gefaßt wird, maßgebend ist für den Variationscharakter. Johannsen (10) hat das Verdienst, die Bedeutung der Erblichkeit für die Beurteilung des Variationscharakters erkannt zu haben, indem er die Begriffe des Phänotypus und Genotypus schuf. Diese Begriffe gehen von der Tatsache aus, daß sich eine Art (ein „Biotypus“) in ihren äußerlich sichtbaren Eigenschaften ändern kann, ohne daß sich die den sichtbaren Eigenschaften zugrunde liegenden Erbeinheiten ändern. Johann-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:01 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

sen bezeichnet demnach als Phänotypus das Gesamtbild der äußerlich sichtbaren Eigenschaften einer Art, als Genotypus die wirkliche Zusammensetzung einer Art aus den einzelnen Erbeinheiten. (Biotypus ist die Gesamtheit aller Individuen des gleichen Genotypus.) Phänotypische Aenderungen brauchen demnach keiner genotypischen, d. h. absolut erblichen Aenderung zu entsprechen; die eventuelle gleichzeitige Abänderung des Genotypus ist erst durch Vererbungsversuche festzustellen.

Normaler Typus.

Bevor ich auf die Beschreibung der Vererbungs- und Variabilitätserscheinungen eingehe, möchte ich kurz das typische Verhalten des normalen Friedländer-Bacillus beschreiben.

Der Bacillus ist ein kurzes, dickes Stäbchen, nach der Teilung kokkenförmig, im Tierkörper und in den künstlichen Kulturen von einer breiten Kapsel umgeben. Zur Feststellung dieser Kapsel bedient man sich am besten des Tuscheverfahrens. Man sieht dann den eigentlichen Bakterienleib ziemlich dunkel, von einer ungefähr halb so breiten, sehr hellen Schicht umgeben, an welche sich die außerordentlich breite Kapsel anschließt (Fig. 1). Läßt man die Kulturen längere Zeit stehen (mindestens 14 Tage), so geht die Kapsel vermutlich autolytisch verloren, ohne daß dadurch die Lebensfähigkeit der Bakterien geschädigt wird. Die Kapsel ist also kein lebenswichtiger Bestandteil des Bakterienleibes. Die den Bacillus zunächst umgebende schmale innere Zone bleibt jedoch auch in alten Kulturen, solange Bakterien darinnen morphologisch nachzuweisen und lebensfähig sind, erhalten, gehört also zum Bakterienleib. Die Bedeutung dieser einzelnen Gebilde ergibt sich aus folgender, jetzt von den meisten Forschern geteilten Anschauung über die Morphologie des Bakterienleibes: Der Bakterienleib besteht aus dem Endoplasma, welches Kernbestandteile und Plasma innig gemischt, meist noch nicht sichtbar gegeneinander differenziert, enthält und aus dem Ektoplasma, welches eine Hülle um das Endoplasma bildet. Bei dieser Bezeichnung müssen wir uns aber klar sein, daß wir das Wort Ektoplasma in anderem Sinne als in der Protozoenkunde üblich gebrauchen, worauf auch Kruse hinweist. Die Bezeichnung Zellprotoplasma (Cytoplasma) und Zellmembran wäre also wohl passender als Endoplasma bzw. Ektoplasma. In dem beigegebenen Tuschephotogramm wäre also der dunkel erscheinende innere Teil des Bakterienleibes das Zellprotoplasma (Endoplasma), die darauffolgende schmale helle Zone die Zellmembran (Ektoplasma). Die breite äußere Schicht jedoch haben wir lediglich als Absonderungsprodukt (in Uebereinstimmung mit Kruse u. a.) aufzufassen. Es ist dies die Schleim- oder besser gesagt die Gallerthülle oder die sogenannte Kapsel. Die Ausbildung dieser Gallerthülle ist, obwohl sie keinen lebenswichtigen Bestandteil des eigentlichen Bakterienleibes darstellt, doch von großer biologischer Bedeutung, wie ebenfalls Kruse (16) betont. Aus den folgenden Untersuchungen wird hervorgehen, daß es sich um eine außerordentlich wichtige und komplizierte Stoffwechselfunktion handelt, welche nicht nur eine sehr charakteristische Eigenschaft des Bakteriums an sich darstellt, sondern auch für die Beziehungen des Bakteriums zu seinem Verhalten im Tierkörper, d. h. für die Pathogenität von Wichtigkeit ist.

Die Gallerthülle besteht aus einer in Wasser außerordentlich quellbaren Substanz; es handelt sich, soviel ich aus den bis jetzt angestellten chemischen Untersuchungen feststellen konnte, um kein echtes Mucin,

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:01 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

überhaupt um keinen reinen Eiweißkörper, sondern um einen zu den Pflanzenschleimen gehörigen Stoff, wahrscheinlich ein höhermolekulares Kohlehydrat. Ich habe die Kapsel deshalb, um zunächst nur die physikalisch-chemische Beschaffenheit zu charakterisieren, einem Vorschlag A. Spulers folgend, als Gallerthülle bezeichnet.

Durch die Methylenblaufärbung erscheint die Kapselsubstanz violett. Ihr Vorhandensein läßt sich dadurch leicht nachweisen, ein Umstand, der zur Erkennung einzelner kapselloser Individuen und der kapsellosen Varianten von Bedeutung ist.

Wird eine phänotypisch normale Kultur mit Tusche betrachtet, so haben sämtliche Individuen eine mehr oder weniger breite Kapsel. Fixiert man den Ausstrich einer solchen Kultur durch Hitze und färbt mit Methylenblau, so erscheinen die Bacillen von einer violetten, unregelmäßig und unscharf begrenzten Hülle umgeben (Fig. 2). Es ist dies die geschrumpfte Kapselsubstanz. Die Bacillen selbst sind tiefer blau gefärbt, doch färbt sich das Endoplasma nicht homogen. Es zeigt nur eine scharfe, stark gefärbte Grenze und ist im Innern schwächer gefärbt. In seinem Innern enthält es ein ovales oder längliches, stärker gefärbtes und sehr charakteristisches Gebilde. Es ist dies wohl die geschrumpfte Chromatinsubstanz. Durch die violette Kapselsubstanz werden die Bacillen in ihren Konturen etwas überdeckt, doch ist dies je nach der Menge der Kapselsubstanz verschieden. Dadurch erscheinen manche Bacillen dunkelviolett überfärbt, manche bedeutend heller (cf. Heim, Lehrbuch der Bakteriologie). Die Individuen phänotypisch normaler Kulturen sind aber alle mehr oder weniger violett gefärbt, d. h. in Kapselsubstanz eingebettet. Ganz als negativ erscheinende Individuen gehören Variationsformen an (cf. später). Die Unterschiede in der Breite der Kapseln, bzw. in der Menge der gebildeten Kapselsubstanz sind zum Teil auf das verschiedene Alter der einzelnen Individuen zurückzuführen, zum Teil darauf, daß nie alle Individuen einer Generation vollkommen gleich sind. Diese Form der Variabilität, die jetzt öfters als fluktuierende bezeichnet wird, möchte ich aus einem später zu erörternden Grunde nicht fluktuierende nennen, sondern individuelle (Darwin, de Vries). Denn die Abweichungen sind nur auf das Individuum beschränkt. Man erhält nach Aussaat auf Agarplatten aus einer solchen Kultur, die sich in den einzelnen Individuen aus den sogenannten Plus- und Minusvarianten zusammengesetzt, nur gleiche Kolonieen. Die individuelle Variabilität gehört also in den Bereich des normalen Phänotypus.

Die Kulturen auf Agar sind außerordentlich üppig. Auf dem Schrägagar bildet der Bacillus schon nach 24 Stunden einen saftigen, zusammenhängenden Rasen, der nach unten abfließt, grau durchscheinend ist und nach 48 Stunden den Höhepunkt des Wachstums ziemlich erreicht hat. Die einzelnen Kolonieen, welche man durch den Plattenguß erhält, sind je nach dem Alter verschieden groß, nach 3 Tagen 7—10 mm, nach 7 Tagen 10—15 mm, erhaben, glasig, und fließen schließlich zu einem homogenen glasigen Rasen zusammen. Man kann von nicht zu alten Kulturen (2—5 Tage) mit der Platinöse die Bacillen in langen zusammenhängenden Fäden von dem Rasen abziehen.

Bei mikroskopischer Betrachtung sind die Kolonieen leicht chagriniert, sonst aber im ganzen homogen, manchmal ist stellenweise eine radiäre Streifung eben angedeutet (Fig. 3). Der Rand ist glatt und rund. Die tiefliegenden Kolonieen erscheinen je nach ihrer Lage rund und sehr zart (wenn sie zwischen Glas und Agar liegen) oder wetzstein-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:01 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

förmig (wenn sie im Innern der Agarschicht liegen cf. Fig. 3). Sie sind viel kleiner, da sie sich nicht so ausbreiten können wie die oberflächlichen Kolonieen und da das Wachstum unter aëroben Bedingungen üppiger stattfindet. Die charakteristischen Eigenschaften kommen deshalb bei den tiefliegenden Kolonien weniger zur Entwicklung, weshalb im folgenden nur die oberflächlichen Kolonieen berücksichtikt werden.

Vererbung und Konstanthalten des normalen Phänotypus.

Der Friedländer-Bacillus läßt sich in seinen äußerlich wahrnehmbaren Eigenschaften sehr leicht konstant erhalten. Am einfachsten dadurch, daß man den Bacillus auf Schrägagar züchtet, einige Male in nicht zu langen Zwischenräumen (alle 2—3 Tage) überträgt und dann wieder Tierpassagen einschiebt. Bei der Kultivierung in Bouillon hält sich der Bacillus, wenn die Uebertragungen ebenfalls in kurzen Zwischenräumen erfolgen, noch länger typisch als auf dem Schrägagar, ohne daß Tierpassagen eingeschoben werden. Dies wurde in einer Serie von 24 stündigen Uebertragungen bis zur 150. Kulturgeneration geprüft. Auch auf Agar lassen sich die Kulturen anscheinend unbegrenzte Zeit typisch erhalten, wenn man das Plattengußverfahren anwendet. Ueberträgt man dabei alle 2—4 Wochen, indem man Material der alten Platten in Bouillon verrührt und aufschwemmt und von dieser Bouillon die nächste Platte gießt, so erhält man stets wieder nur typische Kolonieen (bis jetzt 1 Jahr lang fortgesetzt).

Hieraus ergibt sich, daß Tierpassagen nicht absolut nötig sind zur Erhaltung des normalen Phänotypus, wie er nach den bisherigen Anschauungen nur im Tierkörper oder bei der künstlichen Kultivierung nur in einer beschränkten Zahl von Generationen vorkommt. Um zu beweisen, weshalb beim Plattengußverfahren eine konstante Vererbung der sichtbaren Eigenschaften stattfindet, muß ich kurz vorwegnehmen, welche Bedingungen im Gegensatz hierzu die Variation bewirken. Die Variation tritt dann ein, wenn die Bacillen in zusammenhängenden Bakterienrasen wachsen, was bei der Züchtung auf dem Schrägagar der Fall ist. Die Individuen liegen hier von Anfang an zu eng neheneinander, da ja durch den Agarstrich zusammenhängender Rasen übertragen worden ist. Die unter diesen Wachstumsbedingungen einsetzende Veränderung wird verursacht durch die Anhäufung von Stoffwechselprodukten. Das wird im folgenden bei Schilderung der einzelnen Variationsformen klar hervorgehen. Bei der Kultivierung durch Plattenguß wachsen dagegen die Kolonieen aus einzelnen, isoliert im Nährmedium suspendierten Keimen aus und befinden sich wenigstens eine Zeitlang in einem von Stoffwechselprodukten freien Milieu. So fehlt der die Variation verursachende Reiz, bzw. er wirkt nicht kontinuierlich ein: die Erbeinheiten kommen zur normalen Entfaltung und der Phänotypus vererbt sich unverändert weiter. Der dabei zugrunde liegende Wirkungsmechanismus zwischen Anlage und abänderndem Reiz soll später besprochen werden.

Variabilität.

Die Erscheinungen der einzelnen Variationsformen werden leichter verständlich, wenn ich über Ursache und Wesen der Variationen im allgemeinen einiges vorausschicke. Auf die Ursache der Variationen habe ich schon kurz hingewiesen: Es sind die Stoffwechselprodukte der Bakterien (nicht etwa die Erschöpfung des Nährbodens, wie es zunächst den Anschein haben könnte), welche beim Wachstum im zusammenhängenden Bakterien-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:01 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

rasen sehr rasch, beim Wachstum in Bouillon viel langsamer auf die Bakterien einwirken. Der gleiche Reiz bewirkt je nach Intensität seiner Einwirkung die verschiedenen Variationsformen. Er läßt sich sehr einfach beliebig dosieren. Die gelindeste Einwirkung wird erzielt durch fortgesetzte Uebertragung in kurzen Zwischenräumen, eine stärkere durch fortgesetzte Uebertragung in längeren Zwischenräumen. Bei diesem Verfahren ist die Einwirkung des Reizes bezw. sein Effekt in der Mitte und am Rand des Bakterienrasens verschieden. Die stärkste Einwirkung wird erzielt durch längeres Stehenlassen der Kultur ohne Uebertragung.

Die durch Einwirkung der Stoffwechselprodukte erzielten Veränderungen sind sämtlich retrogressiv. Es gehen dabei bestimmte Eigenschaften des normalen Bacillus entweder vorübergehend oder dauernd verloren, je nachdem es sich um eine Hemmung, Inaktivierung oder wirklichen Verlust von Anlagen handelt. Durch Wegfall der verursachenden Faktoren bzw. durch umgekehrt wirkende Reize (besonders Tierpassagen) gehen die Veränderungen zum großen Teil zurück. Der Wirkungsmechanismus der Stoffwechselprodukte auf die Anlagen wird nach Schilderung der Tatsachen zu untersuchen sein.

Die Modifikation. Man erhält die modifizierte Form am leichtesten durch fortgesetzte Kultivierung auf dem Schrägagar. Die Zwischenräume, in denen übertragen wird, betragen am besten 7 Tage (bei kürzeren Zwischenräumen bleiben die in den ersten Kulturgenerationen am Rand des Bakterienrasens auftretenden Mutanten auch weiterhin erhalten, bei längeren Zwischenräumen können Fluktuanten neben den modifizierten Keimen erhalten werden). Die Uebertragung geschieht so, daß stets von der Mitte des Bakterienrasens der letzten Kultur abgeimpft und auf dem neuen Schrägagar ausgestrichen wird. Die Kultur verändert sich dabei allmählich immer mehr. Zunächst treten am Rand des Bakterienrasens weißliche Sektoren auf, in späteren Kulturgenerationen erscheint der Rand als konfluierendes weißliches Band. Diese Veränderung am Rand des Bakterienrasens ist verursacht durch Mutation (cf. später). Das Innere des Bakterienrasens bleibt dagegen zunächst unverändert, d. h. glasig-grau, durchscheinend, fadenziehend. Bei fortgesetzter Fortimpfung aus den zentralen möglichst wenig veränderten Partien werden die Kulturen allmählich flacher, weißlicher, und zwar auch im Innern des Bakterienrasens. Das Endstadium der Modifikation ist dann erreicht, wenn die Kulturen ganz flach, im Innern fast ebenso weißlich geworden sind wie am Rand. Dies ist in der 15. bis 20. Kulturgeneration erreicht. Der Rand des Bakterienrasens, der zwar meist noch etwas weißlicher gefärbt ist als die zentralen Partien, aber doch bei weitem nicht in solchem Kontrast wie in den ersten Kulturgenerationen, enthält dann keine Mutanten mehr. Wir haben jetzt eine einheitliche Kultur der modifizierten Form vor uns. Es ist von jetzt an gleichgültig, ob bei weiteren Uebertragungen vom Rand oder von der Mitte des Bakterienrasens abgeimpft wird. Die einzelnen Individuen sind, wenn wir sie auf die Kapselbildung untersuchen, verschieden: die meisten besitzen eine schmale, einige aber auch eine breite Kapsel. Am deutlichsten treten die Eigenschaften der Variante hervor, wenn man von einer solchen Agarkultur, z. B. der 20. Passage, Agarplatten durch das Gußverfahren anlegt. Man erhält dann verschiedenartige Kolonieen. Einige sind wie die des normalen Phänotypus: glasig durchscheinend, groß, erhaben. Sie bestehen aus Individuen mit breiten Kapseln. Die Mehrzahl der Kolonieen dagegen ist wesentlich verändert, und zwar lassen sich bis zu den

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:01 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

extrem veränderten alle Uebergänge nachweisen. Die am wenigsten abweichenden sind fast gleich groß wie die normalen, enthalten aber in ihrer glasigen grauen Grundsubstanz weiße Radien (Fig. 4). Diese bestehen aus Bacillen, welche weniger breite Kapseln haben (Fig. 5) und deshalb näher aneinander liegen. Dadurch werden diese Partieen, gegen eine dunkle Unterlage gehalten, weniger durchsichtig und erscheinen weißlich. Die stärker veränderten Kolonieen sind kleiner, bestehen zu ungefähr gleichen Teilen aus grauen und weißlichen Radien, die extrem veränderten sind noch kleiner (nach 3 Tagen 3–5 mm), ganz weiß und flach. Bei mikroskopischer Betrachtung läßt sich aber deutlich erkennen, daß auch sie radiär gestreift sind. Die einzelnen Individuen dieser extrem veränderten Kolonieen besitzen meist keine Kapseln mehr, sondern nur Endoplasma und Ektoplasma — ganz wenige aber noch breite Kapseln.

Prüft man die modifizierte Form auf Erblichkeit, so zeigt sich, daß durch eine Tierpassage (am besten Maus) sofort der normale Phänotypus wieder erhalten wird. Bei dieser durch Tierpassagen erfolgenden Umwandlung der modifizierten Form in den normalen Typus kann die Selektion mitspielen, da die stets noch vorhandenen normalen Individuen mit breiten Kapseln im Tierkörper schneller zur Vermehrung kommen und deshalb bei Kulturen aus dem Blut rein gewonnen werden. Doch wäre die Zurückverwandlung auch ohne Selektion verständlich, da der Tierkörper einen ganz spezifischen Reiz zur Entwickelung des parasitären, d. h. normalen Habitus ausübt und sich in dieser Beziehung durch kein Kulturverfahren ersetzen läßt (cf. Rückschlag der Mutante). Es können also auch aus den extrem modifizierten Individuen durch Tierpassagen wieder normale entstehen.

Beim Plattengußverfahren gehen von einer extrem modifizierten Kolonie in der nächsten Kulturgeneration wiederum verschiedenartige Kolonieen auf: wenige vom normalen Phänotypus, groß und glasig, die meisten Uebergänge zwischen ihm und der Modifikation, einige wie die extreme Modifikation, d. h. klein, flach, weißlich. Impft man von neuem von einer solchen Kolonie ab, so erhält man wieder das gleiche Gemisch von normalen und modifizierten Kolonieen. Dies läßt sich beliebig oft wiederholen. In einem gewissen Grade ist also die Modifikation erblich, d. h. sie bleibt auch ohne Fortdauer der Bedingungen bestehen, welche sie verursachten, nämlich ohne Fortsetzung der Kultivierung auf dem Schrägagar, und schlägt unter Bedingungen, welche den normalen Phänotypus unverändert sich vererben lassen und die Entstehung der modifizierten Form sogar verhindern, nicht vollkommen in den normalen Typus zurück. Man muß aber bei dieser Vererbung durch das Plattengußverfahren stets von extrem modifizierten Kolonieen ausgehen. Impft man dagegen von einer der stets zugleich entstehenden normalen Kolonieen ab, so erhält man wieder nur normale Kolonieen. Man kann also beim Plattenverfahren durch Selektion aus den Nachkommen einer modifizierten Kolonie wieder den normalen Typus gewinnen. Ferner ist der Umstand, daß von den extrem modifizierten Kolonien in der folgenden Generation stets ein großer Teil von normalen und Uebergangsformen aufgeht, ein Beweis dafür, daß sich die mittlere Größe (der „Mittelwert") der Nachkommen gegen die Größe der Elternkolonie verschiebt, daß also keine echte Erblichkeit vorliegt. Untersucht man die Plattenkulturen nach längerer Zeit (7–10 Tage), so bemerkt man, daß sich die extrem modifizierten Kolonieen mit einem glasigen, homogenen

Generated on 2019-09-15 15:02 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Hof umgeben. Impft man von diesem ab (Plattenguß), so erhält man im Gegensatz zur Abimpfung von der Mitte nur normale Kolonieen. Hieraus folgt, daß die Modifikation nur die ersten Generationen einer Kolonie beeinflußt und bei Wegfall der auslösenden Ursache in den späteren Generationen verschwindet (pseudohereditäre Nachwirkung cf. Fig. 4). Es läßt sich also sowohl durch das Plattenverfahren als auch durch Tierpassagen im Laufe einer einzigen Kultur bzw. Passagegeneration der normale Typus wieder gewinnen.

Die Modifikation tritt also derart in Erscheinung, daß durch fortgesetzte Kultivierung auf dem Schrägagar die Kapselbildung allmählich immer mehr abnimmt bis zum Verschwinden der sichtbaren Eigenschaft. Die Veränderung betrifft die meisten Individuen der Massenkulturen; Reinkulturen der modifizierten Form sind also, soweit man bei dieser Variation von Reinkultur sprechen kann, auch ohne Isolierung der einzelnen Keime und Kolonieen durch Plattenguß zu gewinnen. Auf Grund des Verhaltens der modifizierten Form bei Vererbungsversuchen ergibt sich für das Wesen der Modifikation, daß die für die Kapselbildung maßgebenden Anlagen durch Einwirkung der Stoffwechselprodukte, und zwar durch die gelindeste Form der Einwirkung sich nicht voll entfalten, bei den meisten Individuen erheblich gehemmt werden, aber bei Herstellung der für den normalen Typus günstigen Bedingungen mehr oder weniger rasch (pseudoheriditäre Nachwirkung) wieder zur vollen Entfaltung gelangen. Bei der Modifikation beantworten also bestimmte Anlagen den Wechsel in den äußeren Bedingungen gemäß ihrer Reaktionsfähigkeit auf äußere Reize durch Abänderung des Anlageproduktes [O. Hertwig (11)] ohne sich dabei selbst zu ändern.

Modifizierte Formen des Friedländer-Bacillus sind noch durch andere Reize herbeizuführen: Kultivierung bei niederer Temperatur (Streit) verhindert die Kapselbildung vorübergehend. Manche Stämme können nur im Tierkörper breite Kapseln bilden, auf künstlichen Nährböden viel weniger („Ernährungs-" und „Standortsmodifikationen" Nägelis). Für die Beobachtung der Vererbungsvorgänge erschien mir aber die obige Art der Modifikation als die geeignetste.

Die geschilderte Form der Variation wird jetzt allgemein als Modifikation bezeichnet und vom Standpunkt der Erblichkeitsforschung in der angegebenen Weise erklärt. Es bedarf also die Nomenklatur und Auffassung dieser Variation keiner weiteren Begründung.

Mutation. Die Bedingungen, unter denen sich die Mutation einstellt, und die Eigenschaften der Mutante habe ich ausführlich schon früher (22) beschrieben. Die Fortsetzung der Versuche hat nichts wesentlich Neues ergeben, so daß ich mich bei der Beschreibung der Tatsachen jetzt kürzer fassen kann.

Man erhält die Mutante beim Friedländer-Bacillus ebenso wie bei den anderen Bakterien, bei denen besonders Beijerinck (18) und Baerthlein (19) die Gewinnung der Mutanten ausführlich beschrieben haben, wenn man Agar oder Bouillonkulturen des normalen Bacillus längere Zeit im Brutschrank oder nach 24-stündiger Bebrütung bei Zimmertemperatur stehen läßt und dann Platten anlegt. Es genügen 4 Wochen, doch erhält man auf diese Weise nicht aus jeder Kultur die Mutante; tritt die Mutation in einer Kultur nach 4 Wochen noch nicht ein, so erhält man sie meist auch durch längeres Stehenlassen nicht mehr.

Absolut sicher und viel rascher kann man die Mutation herbeiführen, wenn man durch fortgesetzte Uebertragungen auf dem Schrägagar das Wachstum der Bakterien weitergehen läßt, und zwar im zusammenhängenden Bakterienrasen. Wenn man in 3—7-tägigen Zwischenräumen

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:02 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

so überträgt, daß jedesmal von der Mitte des Bakterienrasens abgeimpft und dieses Material auf dem neuen Schrägagar ausgestrichen wird, so tritt meist in der dritten bis vierten Kulturgeneration eine plötzliche auffallende Veränderung ein. Während die ersten Kulturgenerationen aus homogenem, glasig durchscheinendem Bakterienrasen bestanden, treten jetzt plötzlich weißliche Sektoren am Rand des Bakterienrasens auf, die bei Fortsetzung des Verfahrens in den nächsten Kulturgenerationen zunehmen, so daß sie schließlich zu einem breiten weißen Rand konfluieren. Diese weißlichen Partieen bestehen aus Mutanten. Die Mitte des Bakterienrasens bleibt zunächst noch unverändert. Impft man von den peripheren weißlichen Partieen auf Schrägagar ab, so erhält man eine flache, fast ganz weißliche Kultur; diese enthält nur noch wenig glasige, typisch gebliebene Inseln. Wird eine solche veränderte Kultur abermals durch Abimpfung von peripheren, weißlichen Partieen auf Schrägagar übertragen, so erhält man die Mutante meist schon rein. Die Mutante läßt sich also auch durch Massenkultur rein gewinnen. Legt man von den weißen Sektoren oder dem weißen Rand einer Schrägagarkultur, in der die Mutation begonnen hat, durch das Gußverfahren Agarplatten an, so gehen zwei bedeutend verschiedene Arten von Kolonieen auf, die durch keine Uebergangsformen verbunden sind. Ein Teil besteht aus den großen schleimigen Kolonieen des normalen Typus, der andere aus kleinen flachen, weißlichen Kolonieen, den Mutanten. Die einzelnen Individuen der Mutante sind schlanke Stäbchen, welche nur eine sehr dünne Zellmembran besitzen und keine Schleimhülle bilden.

Die durch die Mutation erfolgende Veränderung vollzieht sich in einer Generation. Dies läßt sich dadurch beweisen, daß in den ersten mutierenden Kulturen die letzten, vor Stillstand des Wachstums noch entstehenden Individuen auf einer Zwischenstufe zwischen normalem Typus und Mutante stehen bleiben, welche morphologisch sehr charakteristisch ist (Fig. 6); bei Fortsetzung des Wachstums, also bei erneuter Uebertragung, finden sich diese Zwischenstufen nicht mehr (Fig. 7). Die übertragenen Zwischenformen müssen also entweder noch selbst oder in der nächstfolgenden Generation das Endstadium der Mutation erreicht haben. Dadurch ist der Beweis erbracht, daß die Mutation keine allmähliche, im Verlaufe vieler Generationen sich entwickelnde, sondern eine sprunghafte Variation ist.

Dem Beginn der sichtbaren Mutation geht jedoch eine latente Prämutationsphase voraus. Man erhält z. B. in einer Serie von Kulturgenerationen in der fünften die Mutation, obwohl sich die vierte noch nicht sichtbar gegen die erste verändert hatte. Alle von der ersten Kulturgeneration angelegten Uebertragungen ergeben keine Mutation, dagegen tritt die Mutation in sämtlichen von der vierten Kulturgeneration angelegten Uebertragungen ein. Deshalb muß man annehmen, daß sich im Laufe der Uebertragungen latent eine Veränderung in den Kulturen eingestellt hat, welche erst bei Uebertragung der vierten Kulturgeneration manifest wird, d. h. eine Prämutationsphase.

Die Ursache der Variation ist bei der Mutation besonders klar. Beim Wachstum im zusammenhängenden Bakterienrasen werden bei jeder mutierenden Kultur die peripher gelegenen, d. h. zuletzt entstehenden Individuen von der Mutation betroffen. Diese entstehen unter der Einwirkung schon angehäufter Stoffwechselprodukte, während die zentral gelegenen Individuen nicht zur Mutation kommen, da sie ihr Wachstum schon eingestellt haben, bevor die Anhäufung der Stoffwechsel-

Generated on 2019-09-15 15:02 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

produkte eine genügende ist. Dies geht daraus hervor, daß die Abimpfung der zentralen Partieen durch Plattenguß, d. h. ohne weitere Einwirkung der Stoffwechselprodukte, keine Mutanten ergibt. Auch die Tatsache, daß sich unter den Bedingungen des Wachstums aus isolierten Keimen, d. h. in Bouillon oder beim Plattenguß, die Mutation bei Uebertragung in bedeutend größeren Zwischenräumen nicht einstellt und nur durch außerordentlich langes Stehenlassen der Kultur zu erhalten ist, beweist die Wirkung der Stoffwechselprodukte als Ursache der Mutation.

Die Eigenschaften der durch den Plattenguß rein gewonnenen Mutante verändern sich bei weiterer Kultivierung nicht mehr. Die Mutante ist ein schlankes Stäbchen mit schmalem Ektoplasma (Fig. 8), sie bildet auf der Agarplatte kleine (in 5 Tagen 3—5 mm große), flache, grau-weißliche, homogene Kolonieen (Fig. 9), auf dem Schrägagar einen flachen, grau-weißlichen, nicht abfließenden Bakterienrasen. Man kann die Mutante durch den Plattenguß, auf Schrägagar oder in Bouillon züchten, sie bleibt bei Uebertragung in den üblichen Zwischenräumen (alle 1—4 Wochen) in ihren Eigenschaften vollkommen konstant. Der Mittelwert der isolierten Kolonieen verschiebt sich nicht. Die durch die Mutation eingetretene Veränderung bleibt also, sobald sie einmal manifest geworden ist, auf ihrem Zustand bestehen.

Unter gewissen Bedingungen lassen sich aber doch ganz regelmäßig Rückschläge in den normalen Typus erzielen. Dies gelingt, wenn Kulturen der Mutante längere Zeit unübertragen stehen geblieben sind (mindestens 8 Wochen) und dann neu überimpft werden. Dabei schlägt ein Teil der Mutanten in den normalen Typus zurück. Frische Kulturen der Mutante lassen sich nur durch Tierpassagen (Mäuse) in den Ausgangstypus umwandeln. Man muß dabei sehr große Mengen ins Tier verimpfen. Der Rückschlag tritt dann in der zweiten bis dritten Tierpassage ein. Nach der ersten und eventuell der zweiten Passage ist noch keine sichtbare Veränderung wahrzunehmen, dann aber vollzieht sich plötzlich der Rückschlag, ebenso stoßweise wie die ursprüngliche Mutation. Man muß deshalb annehmen, daß auch dem Rückschlag, d. h. der in umgekehrter Richtung verlaufenden Mutation eine latente Prämutationsphase vorausgeht.

Bei der Gewinnung des normalen Typus durch Rückschlag der Mutante spielen Selektionsvorgänge eine Rolle. Denn nur ein Teil der Mutanten schlägt auf den künstlichen Nährböden oder im Tierkörper in den Typus zurück. Wird nach Beginn dieses Rückschlags eine weitere Tierpassage vorgenommen, so gelangen nur die zurückgeschlagenen Individuen im Blut zur Vermehrung und werden durch Kulturen aus dem Blut rein gewonnen.

Vom Standpunkt der Vererbungsforschung läßt sich der Mutationsvorgang sehr klar präzisieren. Die Mutation besteht darin, daß bestimmte Eigenschaften in einer Generation plötzlich verschwinden und nach vielen Generationen wieder sichtbar werden. Dies beweist, daß die Anlagen zu den betreffenden Eigenschaften nicht verloren gegangen bzw. beim Rückschlag neu entstanden sind, sondern nur ihren Zustand gewechselt haben. Beijerinck hat wohl zuerst vermutungsweise den Gedanken ausgesprochen, daß bei der Mutation aktive Erbeinheiten latent oder latente Erbeinheiten aktiv werden. Diese Annahme hat lediglich auf Grund der Mutationserscheinungen viel Wahrscheinlichkeit für sich; durch den Gegensatz der Mutation zu den anderen Formen der Variabilität erscheint sie mir so gut bewiesen, wie es überhaupt für

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:02 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

die ja immerhin hypothetischen Erbeinheiten nur möglich ist. Ich schließe mich also der Auffassung Beijerincks an und führe die Mutation auf eine Zustandänderung, einen Valenzwechsel von Erbeinheiten zurück. Es werden dabei entweder aktive Erbeinheiten latent oder inaktiv: dies ist die retrogressive Mutation — oder es werden latente Erbeinheiten aktiv: dies ist die progressive Mutation. Die Rückschläge in den Ausgangstypus sind weiter nichts als eine Mutation, welche in umgekehrter Richtung wie die ursprüngliche verläuft (Beijerinck, 18, Baerthlein, 19). Neue Erbeinheiten entstehen also bei der Mutation nicht.

Ich habe früher die progressive Mutation als degressive bezeichnet, da von vielen Autoren eine Variation, welche ein früher schon vorhandenes Artmerkmal wieder sichtbar macht, als degressiv bezeichnet wird. Es erscheint mir aber jetzt einfacher und klarer, bei jeder Variation nur eine progressive und eine retrogressive zu unterscheiden, je nachdem eine sichtbare Eigenschaft zu- oder abnimmt. Das Wesen des Vorgangs wird durch den beigefügten Variationsnamen bezeichnet, z. B. progressive Mutation. Daß eine Variation degressiv ist, d. h. nachdem ein Artmerkmal früher schon vorhanden war, wirklich wieder zu Verlust ging (nicht bloß latent wurde) und dann wieder auftritt, erscheint außerdem schwierig durch Tatsachen zu beweisen.

Die Erscheinungen der Mutation werden durch diese Auffassung gut verständlich. Die Mutante entsteht in unserem Fall durch Inaktivierung von Anlagen, und zwar mehrerer Anlagen. Zunächst verschwindet die sichtbare Kapselbildung; die Kapselbildung beruht, wie sich bei der Fluktuation ergeben wird, auf dem Zusammenwirken mehrerer gleichsinniger Erbeinheiten, d. h. eines biologischen Radikals [Plate (8)]; es wird also ein Komplex von Anlagen mit dem Verlust der sichtbaren Kapselbildung inaktiv. Zugleich tritt auch im Endoplasma eine Veränderung ein, denn aus dem breiten Stäbchen wird plötzlich ein schlankes. Es muß also noch eine weitere, mit dem Aufbau des Endoplasmas in Verbindung stehende Erbeinheit inaktiv werden. Das Sprunghafte der Mutation erklärt sich dadurch, daß die Abänderung der betreffenden Anlagen in einem Valenzwechsel beruht. Die Anlagen ändern sich dabei in ihrer sichtbaren Erscheinung in vollem Umfang, ohne daß wahrnehmbare Aenderungen vorausgehen. Denn die Prämutationsphase verläuft, wie erwähnt, latent. Wird also eine Anlage inaktiv, so muß die dadurch bedingte sichtbare Veränderung im Verlauf einer einzigen Generation vollständig ausgebildet sein. Der Rückschlag in den normalen Typus vollzieht sich durch die ebenso sprunghaft erfolgende Aktivierung der vordem latent gewordenen Anlagen.

Die Erblichkeit der Mutation wird folgendermaßen verständlich. Die Inaktivierung der betreffenden Anlagen findet durch Einwirkung der Stoffwechselprodukte statt, welche vom normalen Typus in großer Menge gebildet werden. Die Mutante besitzt im Vergleich dazu einen sehr reduzierten Stoffwechsel, bleibt aber bei weiteren Uebertragungen beständig und zwar auch beim Wachstum aus isolierten Keimen: man muß also annehmen, daß auch die Produkte des reduzierten Stoffwechsels der Mutante dazu genügen, um die inaktivierten Anlagen weiterhin inaktiv zu halten. Die Mutante zeigt also eine größere Erblichkeit als die modifizierte Form. Denn unter den Nachkommen der modifizierten Individuen schlägt ein Teil schon durch das Wachstum in isolierten Kolonieen in den Typus zurück.

Der Rückschlag der Mutante findet bei künstlicher Kultivierung nur durch Aussaat alter Kulturen statt. Man darf wohl annehmen, daß in diesen die Einwirkung der Stoffwechselprodukte allmählich abnimmt, da

Generated on 2019-09-15 15:02 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

diese selbst nicht beständig sind und von einem gewissen Alter der Kultur ab nicht mehr von neuem gebildet werden. In diesem Latenzstadium kommen die inaktivierten Anlagen gemäß ihres Beharrungsvermögens wieder in den aktiven Zustand, der zunächst nur in einer unsichtbaren Prämutationsphase besteht. Diese geht bei erneuter Proliferation, d. h. bei Uebertragung auf einen neuen Nährboden, in den aktiven Zustand über und es kommt zur normalen Entfaltung der Anlagen. Der durch Tierpassagen erfolgende Rückschlag junger Kulturen muß durch eine spezifische Wirkung des Tierkörpers erklärt werden. Denn allein durch das Wachstum in einem von Stoffwechselprodukten freien Milieu, also durch den Plattenguß, findet auch bei Uebertragung in möglichst kurzen Zwischenräumen der Rückschlag nicht statt. Es hat demnach der Tierkörper für die Entfaltung der Anlagen des normalen, parasitären Typus eine spezifische Reizwirkung. Ist einmal der Rückschlag in den normalen Typus irgendwie eingetreten, so bleibt der normale Typus unter den schon bei Schilderung der Vererbung angegebenen Bedingungen beständig, d. h. auch bei künstlicher Kultivierung durch den Plattenguß. Im ganzen folgt aus dem Verhalten der Mutante bei Vererbungsversuchen, daß normaler Typus und Mutante unter gleichen Bedingungen konstant bleiben, sobald einmal der jeweilige Zustand der Erbeinheiten (Aktivität oder Latenz) herbeigeführt ist. Die Erbeinheiten verharren also in dem Zustand, in den sie durch äußere Faktoren gebracht werden, ohne daß die den betreffenden Zustand verursachenden Faktoren in gleicher Stärke andauern.

Die Mutation galt bisher als eine spontan einsetzende und richtungslos, d. h. nach beliebigen, in ihrer Bedeutung nicht erkennbaren Richtungen verlaufende Variation. Daß die Mutation nicht spontan verläuft, ist schon durch die angegebenen Ursachen der Mutation klar geworden; daß auch die Richtung der Mutation eine bestimmte ist, wird sich später ergeben (cf. Wirkungsmechanismus der Variationen).

Es erscheint mir nun noch dringend nötig, die Bezeichnung Mutation für die geschilderte Art der Variation zu rechtfertigen. Die heutige Erblichkeitsforschung bezeichnet als Mutation eine wirkliche Veränderung der Art durch Abänderung in ihrer Zusammensetzung aus Erbeinheiten. Wir legten jedoch dem Mutationsbegriff nur einen Valenzwechsel, eine Zustandsänderung von Anlagen zugrunde, durch welche die Artgrenzen nicht überschritten werden. Wenn ich bei dieser Auffassung bestehen bleibe, so geschieht das aus zwei Gründen.

Erstens: Im Anschluß besonders an die von de Vries (3) stammenden Untersuchungen hat man als Mutation eine Art der Variation bezeichnet, welche die geschilderten äußerst charakteristischen Eigenschaften besitzt. Wenn sich die von de Vries als reine Mutationen aufgefaßten Veränderungen der Oenothera Lamarckiana auch zum größten Teil auf Bastardierungserscheinungen zurückführen lassen, so sind doch vermutlich echte Mutationsvorgänge damit verknüpft gewesen. Die von de Vries für die Mutation als charakteristisch bezeichneten Gesetzmäßigkeiten haben sich auch später bei anderen Arten wiedergefunden und es werden demnach als Mutationen bezeichnet: stoßweise, nur in einem Teil der Nachkommen erfolgende und in hohem Grad erbliche Veränderungen. Die Bakterienmutationen zeigen genau die gleichen Gesetzmäßigkeiten.

Zweitens: Es ist mir gelungen, die wirklich erbliche Veränderung des Idioplasmas auf eine andere Form der Variabilität zurückzuführen,

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:02 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

welche ganz andere Gesetzmäßigkeiten zeigt. Diese Variation findet nicht stoßweise, sondern in kontinuierlichen Reihen statt und ist, soweit experimentell kontrollierbar, absolut erblich. Ich bezeichne sie im folgenden als Fluktuation. Aus diesen Gründen möchte ich die oben geschilderte, äußerst charakteristische Variationsform weiterhin als Mutation bezeichnen, auch wenn sich herausgestellt hat, daß sie die mit der Beobachtung zunächst willkürlich verbundene theoretische Vorstellung der Artumbildung nicht erfüllt. Die als Mutationen bei verschiedenen Tier- und Pflanzenarten bisher beschriebenen und für eine Ueberschreitung der Artgrenzen gehaltenen Variationen beruhen meines Erachtens ebenfalls nur auf einer Zustandsänderung von Erbeinheiten.

Die bakteriologische Forschung hat durch die genaue Verfolgung der Mutationserscheinungen die Erblichkeitslehre um die Tatsache bereichert, daß durch einen Valenzwechsel von Anlagen erblich konstante Rassen entstehen können. Der Valenzwechsel als Quelle der Variabilität war zwar schon lange bekannt, aber nicht als Ursache erblich konstanter und experimentell zu beherrschender Variation. Derartige schon längst bekannte Erscheinungen des Valenzwechsels erstreckten sich immer nur auf eine oder einige Generationen; daß aber durch einen experimentell herbeigeführten Valenzwechsel Anlagen beliebig viele Generationen hindurch in ihrem Zustand der Latenz oder Aktivität zu halten sind und sich jederzeit durch gesetzmäßig wirkende äußere Einflüsse in ihren Ausgangszustand zurückführen lassen, ist erst durch die Bakterienmutationen bekannt und bewiesen worden.

Fluktuation. Als Fluktuation bezeichne ich eine Art der Variation, welche nicht nur zu einer Variante, sondern zu mehreren Varianten führt. Diese bilden nach dem verschiedenen Grad ihrer Abweichung vom Typus eine kontinuierliche Reihe.

Die Gewinnung dieser Varianten ist etwas schwieriger als die der bisher geschilderten, weil immer nur sehr wenige Individuen einer Kultur diese Form der Variation zeigen. Bei Aussaat einer genügend großen Zahl von Individuen, eventuell Verwendung mehrerer unter den gleichen Bedingungen gehaltener Kulturen gleichzeitig gelingt es jedoch regelmäßig, die Fluktuanten zu gewinnen. Man erhält sie folgendermaßen: Von einer durch Plattenguß erhaltenen Kolonie des normalen Typus, der vorher noch durchs Tier gegangen oder auf Agarplatten in isolierten Kolonieen gewachsen war, werden Schrägagar- oder Bouillonkulturen angelegt, 24 Stunden bei 37° bebrütet und dann bei 15° stehen gelassen. Frühestens nach 14 Tagen, am besten nach 20—30 Tagen, werden von diesen Kulturen (ich habe bei den meisten Versuchen mit Schrägagarkulturen gearbeitet) Agarplatten angelegt[1]). Von allen Teilen des Bakterienrasens wird durch gründliches Verrühren mit der Platinöse Material entnommen, in Bouillon aufgeschwemmt und dort durch wiederholtes Hin- und Herneigen des Röhrchens gemischt. Von dieser Aufschwemmung werden verflüssigte Agarröhrchen nach dem bekannten Verdünnungsverfahren geimpft und zu Platten ausgegossen. Die Platten stehen 24 Stunden im Brutschrank, bleiben dann bei Zimmertemperatur stehen und werden nach 3—5 Tagen untersucht. Von den Platten sind

1) Später verschwinden die Fluktuanten wieder. Es entspricht dies der schon bekannten Tatsache, daß die zuletzt gebildeten Individuen einer Kultur am raschesten absterben, da sie in ihrem vegetativen Zustande durch die Stoffwechselprodukte viel stärker geschädigt werden als die ältesten, die sich zur Zeit der Anhäufung der Stoffwechselprodukte schon im Latenzstadium des Wachstums befinden.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:02 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

nur diejenigen verwendbar, welche eine genügende Zahl von Kolonieen, aber doch mindestens in Abständen von $^1/_2$ bis 1 cm enthalten. Ist die Aussaat dichter, so kommen die Kolonieen nicht vollständig genug zur Entwicklung ihrer typischen Eigenschaften und können deshalb nicht beurteilt werden. Auf den Agarplatten, die eine geeignete Keimzahl enthalten, findet man bei der Untersuchung weitaus die größte Zahl ganz unverändert, einige in der schon geschilderten Weise durch Radiärstreifung modifiziert, eventuell auch Mutanten. Die für die Fluktuation in Betracht kommenden Kolonieen sind kleiner als die des normalen Typus, und zwar lassen sich 3 verschiedene Stadien der Fluktuation unterscheiden. Die fluktuierten Kolonieen sind besonders bei mikroskopischer Betrachtung mit Sicherheit zu erkennen.

Die am wenigsten veränderten Kolonieen (Fluktuante I) sind nach 3—5 Tagen ungefähr $^2/_3$ so groß wie die des normalen Typus, 7—10 mm im Durchmesser, erhaben, homogen, aber nicht ganz so glasig durchscheinend, sondern etwas stärker weißlich-grau. Die einzelnen Bacillen haben sämtlich eine etwas schmalere Kapsel als die der normalen Kolonieen. Werden von solch einer fluktuierten Kolonie Platten gegossen, so erhält man die Fluktuante rein. Die aufgehenden Kolonieen sind vollkommen der Elternkolonie gleich. Bei längerem Wachstum konfluieren die Kolonieen, jedoch nicht alle. Sie überziehen nie die ganze Agarplatte in zusammenhängendem, zerfließlichem Rasen wie der normale Typus. Durch Abimpfung einer solchen fluktuierten Kolonie auf dem Schrägagar erhält man einen homogenen, leicht erhabenen, grau-weißlichen und abfließenden Bakterienrasen.

Die Kolonieen des 2. Stadiums (Fluktuante II) sind noch etwas kleiner, nach 3 Tagen 5—7 mm groß, etwas erhaben, stärker weißlich-gelb, aber noch etwas durchscheinend. Bei Abimpfung ergeben sie nur Kolonieen, welche der Elternkolonie vollkommen gleichen. Die einzelnen Bacillen haben eine Kapsel, die ungefähr 2mal so breit ist als der Bakterienleib. Bei längerem Stehenlassen konfluieren die Kolonieen zum Teil mit den benachbarten Kolonieen, breiten sich aber dann nicht weiter aus. Auf dem Schrägagar erhält man einen noch etwas erhabenen abfließenden Bakterienrasen, der am Rande weißlich-grau, im Innern noch grau durchscheinend ist.

Das 3. Stadium (Fluktuante III) zeigt noch kleinere (3—5 mm große), leicht gelblich-weiße, nicht mehr durchscheinende Kolonieen, die in den ersten Tagen ganz flach sind und makroskopisch vollkommen den extrem modifizierten gleichen. Bei mikroskopischer Betrachtung (Fig. 8) unterscheiden sie sich von diesen aber dadurch, daß sie keine radiären Strahlen zeigen. Sie erscheinen ebenso wie die anderen Fluktuanten homogen chagriniert. Dementsprechend findet man bei mikroskopischer Untersuchung auch nur gleichartige Einzelindividuen vor. Beim Tuscheverfahren erscheinen die Bakterien der Fluktuanten III ohne deutliche Kapsel, nur aus Bakterienleib und breiter Membran bestehend. Daß die Schleimhülle fehlt oder nur in minimalem Grade vorhanden ist, geht besonders bei der Methylenblaufärbung hervor. Die Bakterienleiber erscheinen dabei zwar scharf kontinuiert, es fehlt aber die für die schleimbildenden Individuen charakteristische violette Ueberdeckung (Fig. 11). Auf dem Schrägagar bildet die Fluktuante III einen flachen Bakterienrasen, der im Innern grau durchscheinend, am Rande etwas weißlich gefärbt ist. Der Rasen ist abfließend im Gegensatz zu der ebenfalls weißlich-grauen, flachen Kultur der Mutante.

Generated on 2019-09-15 15:02 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Die Fluktuante III hatte ich schon vor 2 Jahren durch einen Zufall erhalten. Ich kannte damals die Bedingungen, unter denen sie gewonnen wird, noch nicht und führte die Fluktuante in meiner Arbeit über die Mutation nur kurz als Gegensatz zur Mutante an. Die damals schon skizzierten Eigenschaften der Fluktuante waren auch weiterhin zu beobachten. Die Gewinnung der Fluktuante hat jedoch auf andere Weise zu geschehen, als damals angegeben. Sie gelingt auf die dort geschilderte Weise nur durch großen Zufall; denn da die Fluktuanten stets nur in sehr spärlicher Zahl entstehen, werden sie in Massenkulturen fast regelmäßig überwuchert und können nur durch Selektion aus isolierten Keimen, d. h. durch Plattenguß gewonnen werden.

Die 3 Fluktuanten sind, soweit ich bis jetzt beobachten konnte, in ihren Eigenschaften jede für sich absolut beständig (innerhalb einer bestimmten, für jede Fluktuante konstanten Variationsbreite). Sie können weder in eine andere Fluktuante noch in den normalen Typus umgezüchtet werden. Die Fluktuanten I und II wurden bis jetzt fast 1 Jahr lang, die Fluktuante III über 2 Jahre lang beobachtet. Die Fortzüchtung durch das Plattengußverfahren ergibt, daß bei den 3 Fluktuanten die Nachkommen vollkommen den Elternkolonieen gleichen. Der Mittelwert der Individuen verschiebt sich also nicht. Tierpassagen, welche die modifizierte Form und die Mutante in kürzester Zeit in den normalen Typus zurückverwandeln, lassen die Fluktuanten selbst nach zahlreicher Wiederholung innerhalb ihrer Variationsbreite unverändert. Bei Fluktuante I wurden 10, bei Fluktuante II wurden 20, bei Fluktuante III wurden 80 Mäusepassagen vorgenommen. Dabei geschah eine Zeitlang die Infektion mit eben tödlichen Dosen, und später, als es sich herausstellte, daß bei der Mutante der Rückschlag am raschesten durch Impfung mit enormen Dosen eintritt, wurden außerordentlich große Dosen zur Infektion verwendet. Auch hierdurch konnte kein Rückschlag, nicht einmal eine Annäherung an den normalen Typus erzielt werden. Die Fluktuante III ist durch die 80 Tierpassagen nicht einmal in den Typus der Fluktuante II zurückverwandelt.

Auch der umgekehrte Weg gelingt nicht. Es wurde versucht, die Fluktuante I in II oder III umzuwandeln bzw. aus Kulturen der Fluktuante I durch längeres Stehenlassen einige Individuen von II oder III zu gewinnen, also die gleiche Methode angewendet, bei der Fluktuante I aus dem normalen Typus hervorgegangen war. Auch dies war ohne Erfolg. Es waren höchstens modifizierte Kolonieen oder Mutanten der Fluktuante I zu erhalten.

Dies war auf Grund folgender Ueberlegung auch verständlich. Die Fluktuante I, II und III entstehen aus dem normalen Typus durch stärkste Einwirkung der im vollen Umfange gebildeten Stoffwechselprodukte. Die Fluktuanten haben einen gegen den Typus wesentlich reduzierten Stoffwechsel. Wachsen sie also in Reinkulturen, so bilden sie weniger Stoffwechselprodukte als der Typus und dadurch verliert der die Abänderung bewirkende Reiz an Intensität. Die Fluktuation schreitet dann nicht mehr zu stärkerer Ausbildung weiter. Dieser negative Befund läßt also doch die Möglichkeit offen, daß die extremen Fluktuanten allmäblich aus weniger extrem veränderten hervorgehen und nicht unmittelbar aus dem normalen Typus, d. h. sprunghaft, wie die Mutanten. Auf jeden Fall soll noch versucht werden, aus Fluktuante I durch eine andere Methode die Fluktuante II und aus dieser die Fluktuante III zu erhalten (Uebertragung des ganzen Bakterienrasens inklusive der Stoffwechselprodukte auf einen neuen Nährboden, wobei das Wachstum unter möglichster Anhäufung der Stoffwechselprodukte weiter geht).

Vom Wesen der Fluktuation können wir uns auf Grund ihrer sichtbaren Gesetzmäßigkeiten folgende Vorstellung machen. Die Fluktuation bestand darin, daß die Fähigkeit der Kapselbildung bei den Fluktuanten in verschiedenem Grade, bis zum fast völligen Verschwinden abnahm. Die Fluktuation war also retrogressiv. Lediglich um eine Hemmung oder Inaktivierung von Anlagen kann es sich hier jedoch nicht handeln.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:02 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Denn wir sahen, daß bei der Modifikation ein erheblicher Grad von Hemmung und bei der Mutation sogar eine völlige Inaktivierung von Anlagen jederzeit durch gewisse Bedingungen aufgehoben wird und in die normale Funktion wieder übergeht. Wir müssen also zur Erklärung des absolut erblichen Verlustes einer sichtbaren Eigenschaft bei der Fluktuation einen wirklichen Verlust der betreffenden Anlagen annehmen.

Dadurch wird es unwahrscheinlich, daß die Fähigkeit der Kapselbildung auf einer einzigen Erbeinheit beruht. Denn es ist nicht vorstellbar, daß eine einzige Erbeinheit zu einem verschiedenen Teile verloren geht. Man müßte diese Erbeinheit dann wieder in einzelne, unabhängig voneinander funktionsfähige Faktoren teilen. Wenn wir aber bei der Vorstellung der Erbeinheit als des kleinsten für eine Eigenschaft maßgebenden Teilchens der Erbsubstanz festhalten, müssen wir in unserem Falle annehmen, daß die in verschiedenem Grade zu Verlust gehende sichtbare Eigenschaft auf mehreren Erbeinheiten beruht. Die völlige Ausbildung der normal entwickelten Kapsel beruht also auf dem Zusammenwirken mehrerer gleichsinniger Faktoren. Die Kapselbildung ist ein polygenes Merkmal, ein „biologisches Radikal".

Die verschiedenen für sich erblich konstanten Stadien der retrogressiven Fluktuation beruhen also darauf, daß je nach dem Grade der Abweichung eine oder mehrere der gleichsinnigen Erbeinheiten verloren gehen. Nur durch diese Annahme läßt sich meines Erachtens die erbliche Konstanz der verschiedenen Stadien begreifen. Besonders klar wird dies durch den Gegensatz zu den anderen Formen der Variabilität, besonders der Mutation. Hierbei werden die gleichsinnigen Erbeinheiten in ihrer Gesamtheit gleichzeitig verändert. Das biologische Radikal wird im vollen Umfang latent bzw. aktiv. Dadurch erklärt sich der große Unterschied, der „Sprung", welcher vom normalen Typus zur Mutante führt, gegenüber den schrittweisen Veränderungen, welche die Fluktuation bewirkt.

Die Benennung „Fluktuation" rechtfertigt sich zum Teil durch Anschauungen und Beobachtungen, welche schon von Darwin (1) herrühren, zum Teil durch Ergebnisse der modernen Erblichkeitsforschung. Fluktuierende Variabilität wird jetzt gewöhnlich jede Variabilität genannt, welche zwischen normalem Typus und extremer Variante kontinuierliche Reihen von Uebergängen, Zwischenformen bildet. Man versteht darunter im allgemeinen die Erscheinung, daß die Individuen einer reinen Linie in der gleichen Generation sich nie ganz gleich sind, sondern in ihren Eigenschaften um einen bestimmten Mittelwert schwanken. Hierher gehören die schon erwähnten Plus- und Minusvarianten. Diese fluktuierende Variabilität ist jedoch nicht erblich. Es gelingt nicht. durch Selektion von Plus- und Minusvarianten eine erblich veränderte Rasse zu gewinnen (Johannsen). Ich möchte deshalb diese Form der Variabilität in Anknüpfung an de Vries „individuelle Variabilität" nennen und die Bezeichnung Fluktuation für die oben beschriebene Variationsform anwenden, welche ebenfalls in kontinuierlichen Reihen stattfindet, aber erblich ist. Den Begriff des Erblichen hat schon Darwin mit der Fluktuation verbunden. Es erscheint mir auf Grund meiner Resultate als begründet, den von Darwin geschaffenen Begriff der Fluktuation wieder zur Geltung zu bringen, und zwar in seiner ursprünglichen Bedeutung. Die Fluktuation hat sich also als diejenige experimentell erzielbare Variation herausgestellt, welche zu absolut erb-

Generated on 2019-09-15 15:02 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

lichen Veränderungen führt, soweit dies experimentell zu kontrollieren ist. Sie führt zur Bildung mehrerer Varianten, welche nach dem Grade ihrer Abweichung eine kontinuierliche Reihe bilden. Sie wurde nur als retrogressive Fluktuation beobachtet, d. h. sie brachte einen erblichen Verlust von Erbeinheiten.

Erbliche retrogressive Veränderungen bei Bakterien wurden auch schon von anderen Autoren beobachtet, aber nur, soviel ich finde, in sehr geringer Zahl. So stellte Hansen fest, daß eine Hefenart unter bestimmten Bedingungen das Sporenbildungsvermögen erblich verlor. Vermutlich gehören auch die von Preisz (26) bei Milzbrandbacillen erzielten Abänderungen hierher.

Die Frage der progressiven Fluktuation möchte ich nur kurz streifen. Eine progressive Fluktuation wäre es möglicherweise, wenn es gelänge, die extreme Fluktuante in den Typus zurückzuverwandeln. Die Wirkungslosigkeit aller derjenigen Reize, welche die anderen Varianten rasch wieder in den normalen Typus zurückschlagen lassen, auch wenn sie sich, wie die Mutante, morphologisch bedeutend mehr vom Typus unterscheiden wie die Fluktuante, führt zu der Annahme, daß Erbeinheiten viel leichter zu dauerndem Verlust zu bringen sind, als daß verlorene Erbeinheiten wieder hervorgerufen werden können. Trotzdem sollen die Tierpassagen noch fortgesetzt werden.

Ueber die Beziehungen der einzelnen Variationsformen zueinander. Der Reiz, welcher zur Entstehung der Varianten führt, erleidet, sobald die Varianten einmal in Reinkultur gewonnen sind und auf die gleiche Weise wie der normale Typus fortgezüchtet werden, eine Veränderung seiner Intensität: denn die Varianten haben sämtlich einen gegen den normalen Typus reduzierten Stoffwechsel, was sich durch die Abnahme der Schleimbildung bemerkbar macht. Dadurch verliert die Ursache für eine weitergehende Veränderung der Varianten an Wirkungskraft. Unter diesem Gesichtspunkt wird das Verhalten der isolierten Varianten gegenüber Variabilitätsversuchen verständlich.

Die modifizierte Form wächst viel weniger üppig als der Typus. Weitaus die Mehrzahl der Individuen bildet keine Kapsel mehr. Aus ihr lassen sich keine Mutanten oder Fluktuanten gewinnen; auch bei beliebig langem Stehenlassen der Kulturen werden immer nur wieder modifizierte Kolonieen erhalten. Die Gewinnung von Mutanten und Fluktuanten ist erst dann wieder möglich, wenn durch Plattenguß oder Tierpassagen der normale Typus wiedergewonnen wird. So erklärt sich die auch von anderen Autoren, besonders Baerthlein, beobachtete Tatsache, daß die pathogenen Bakterien gerade in den kurz den Tierpassagen folgenden Kulturen besonders leicht mutieren.

Die Fluktuanten I, II und III zeigen in gleicher Reihenfolge eine zunehmende Reduktion des Stoffwechsels und der Schleimbildung. Sie sind, wie schon erwähnt, nicht mehr imstande, durch Anhäufung ihrer Stoffwechselprodukte Fluktuanten abzuspalten. Für die Entstehung von Mutanten genügen dagegen die von Fluktuanten I und II gebildeten Stoffwechselprodukte. Die Fluktuante I und II sind imstande, unter den gleichen Kulturbedingungen wie der normale Typus Mutanten zu bilden, die sich morphologisch nicht von der Mutante des normalen Typus unterscheiden. Fluktuante III dagegen bildet keine Mutanten mehr [1]). Die Mutanten der Fluktuanten zeigen die gleichen Eigenschaften hinsichtlich der Vererbung und des Rückschlags wie die Mutanten des

1) Nach 80 Mauspassagen bildet die Fluktuante III wieder Mutanten, ohne aber den Typus der Fluktuante II erreicht zu haben.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:02 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

normalen Typus. Beim Rückschlag entstehen wieder die entsprechenden Fluktuanten, ein weiterer Beweis für die erbliche Konstanz der einzelnen Fluktuanten.

Zur Modifikation, welche durch die geringste Einwirkung der Stoffwechselprodukte herbeigeführt wird, sind sämtliche drei Fluktuanten befähigt. Die Modifikation zeigt sich darin, daß jede Fluktuante bei fortgesetzter künstlicher Kultivierung (Schrägagar) allmählich immer schmalere Kapseln bildet bis zu einem für jede Fluktuante bestimmten Minimalwert. Bei Fluktuante III ist dann gar keine Schleimhülle mehr vorhanden, nur breites Ektoplasma. Durch Tierpassagen nimmt die Kapselbildung wieder zu, und zwar ebenfalls bei jeder Fluktuante bis zu einem bestimmten Maximalwert. Auch bei Fluktuante III tritt dann Kapselbildung ein, die aber auch nach 80 Tierpassagen nicht den Durchschnittswert der Fluktuante II erreicht.

Die stärkste Reduktion des Stoffwechsels weist die Mutante auf. Bei ihr ist also der für eine weitere Variation in Betracht kommende Reiz am geringsten, und so wird es verständlich, daß die Mutante keine weiteren Variationsformen abspaltet, ja daß sie in alten Kulturen spontan in den Typus zurückschlägt.

Nur zur Modifikation ist die Mutante befähigt. Das Ektoplasma nimmt bei sehr langer Kultivierung auf dem Schrägagar bis zum fast völligen Verschwinden ab und umgekehrt durch Tierpassagen (bevor der Rückschlag eintritt) zum ursprünglichen Wert wieder zu.

Ueber den Wirkungsmechanismus bei der Variabilität und Vererbung und über die scheinbare Zweckmäßigkeit der Variabilität: Die erzielten Variationen sind hinsichtlich ihrer Ursache und ihrer sichtbaren Erscheinung schon klargestellt. Es fragt sich jetzt noch, ob die Richtung der Variation in erkennbarer Weise durch die bekannten Ursachen beeinflußt wird. Zunächst muß entschieden werden, welche Stoffwechselprodukte zur Entstehung der Variation ursächlich in Betracht kommen. Es sind dies der Bakterienschleim und dessen Abbauprodukte. Denn ohne Bildung dieser Stoffe tritt keine Variation ein. Die Einwirkung der Stoffwechselprodukte auf den normalen Bacillus bewirkte die Entstehung von Varianten, welche eben diese Stoffe nicht mehr bildeten. Das Wesentliche des Variationsvorgangs bestand also darin, daß die Anhäufung eines bestimmten Stoffwechselproduktes, wenn sie zur größtmöglichen Menge und Konzentration wie beim normalen Typus vorgeschritten ist, bei gleichzeitig entstehenden Generationen die weitere Bildung dieses Produktes verhindert. Es entspricht dies einer in der organischen und anorganischen Natur allgemein verbreiteten Erscheinung, welche in dem Gesetz der passiven Widerstände (Le Chatelier, van't Hoff) zusammengefaßt wird. Sobald z. B. durch ein Ferment ein Stoff zerlegt wird und die Endprodukte eine gewisse Konzentration erreicht haben, hört die weitere Zerlegung des Stoffes auf, auch wenn noch genug Ausgangsmaterial vorhanden ist. Die Stabilität des Organischen und Anorganischen ist zum großen Teil durch die passiven Widerstände bedingt. Bei Bakterien konnte Weichardt (35) nachweisen, daß das Wachstum in Kulturen durch Einwirkung der Stoffwechselprodukte viel früher aufhört als der Nährboden erschöpft ist. Neuerdings ist von Mazzetti (34) eine hierher gehörende Erscheinung beim Stoffwechsel der Cholerabacillen nachgewiesen worden. Die Cholerabacillen können aus Nitraten Nitrite bilden, aber nur bis zu einer bestimmten Konzentration. Ist diese Nitritkonzentration im Nähr-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:02 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

boden schon vor Zusatz der Cholerabacillen künstlich hergestellt, so findet keine weitere Nitritbildung mehr statt. Trotzdem geht das Wachstum ungestört weiter vor sich, wie sich durch die Indolbildung nachweisen läßt. Daraus folgt zunächst, daß es voneinander unabhängige Funktionen des Stoffwechsels gibt und, was für unsere Beobachtung besonders in Betracht kommt: daß durch Anhäufung eines bestimmten Stoffwechselproduktes gerade die weitere Bildung dieses Produktes gehemmt wird. Der Vorgang der Variation in unserem Fall ist also so zu verstehen, daß die von dem normalen Bacillus im vollen Umfang gebildeten Stoffwechselprodukte durch ihre Anhäufung und wohl auch ihre Abbaustufen eine weitere Bildung der gleichen Produkte verhindern. Diese Hemmung greift also bei den Bakterien an den gleichen Stellen des Stoffwechselapparates an, durch welche die in Rede stehenden Stoffwechselprodukte selbst gebildet werden: Es werden ganz bestimmte Anlagen in ihrer Funktion beeinflußt, und das Wesentliche dabei ist, daß diese Beeinflussung je nach dem Grade des einwirkenden Reizes nicht nur eine vorübergehende, sondern eine erbliche Veränderung der betreffenden Anlagen herbeiführen kann. Die Variation ist also in unserem Falle eine nach dem Gesetze der passiven Widerstände erfolgende Hemmungserscheinung.

Der Vorgang der Vererbung wird durch diese Auffassung ebenfalls weiter verständlich. Die Bedingungen der künstlichen Kultivierung, welche das Konstantbleiben der normalen Eigenschaften ermöglichten, bestanden darin, daß der Bacillus aus isolierten Keimen zu einzelstehenden Kolonieen sich vermehrte. Das Wachstum fand also wenigstens eine Zeitlang, d. h. solange die Kolonieen nicht größer wurden und konfluierten, in einem von Stoffwechselprodukten freien Milieu statt. In dieser Zeit fehlten die zur Hemmung der Anlagen führenden Reize und die Anlagen kamen bei jeder Uebertragung wieder zur vollen Entfaltung. Es ist dies ein Beweis für das Beharrungsvermögen der Anlagen als Ursache der Vererbung. Der normale, parasitäre Typus läßt sich auch außerhalb des Tierkörpers in seinen charakteristischen parasitären Eigenschaften konstant erhalten, wenn die abändernd wirkenden Reize des neuen Milieus (der „Domestikation") nicht stärker sind als das Beharrungsvermögen der Anlagen.

Die extremen Varianten, besonders die Mutante und Fluktuate III, zeigen sich auf den künstlichen Nährböden, besonders auf den Agarplatten bedeutend länger lebensfähig als der normale Typus. Man könnte also versucht sein, anzunehmen, die Variation sei eine Anpassungserscheinung an das neue Milieu und habe arterhaltende Bedeutung, d. h. die Variation erfolge aus Gründen der Zweckmäßigkeit, wie ich selbst auch früher glaubte. Bei Erörterung des Wirkungmechanismus der Variationen führten wir jedoch aus, daß die Variationen nach Ursache und Richtung sich kausal-analytisch vollkommen begreifen lassen. Daß die Varianten länger in den Kulturen lebensfähig sind als der normale Typus, erscheint selbstverständlich, da sie die schädlich wirkenden Stoffwechselprodukte in geringeren Mengen bezw. gar nicht mehr bilden und außerdem weniger Nährmaterial zu ihrer Existenz brauchen. Die Annahme einer Zweckmäßigkeit gewissermaßen als innerer Ursache der Variation läßt sich also von der Hand weisen, wenn auch nicht zu leugnen ist, daß die Variationen im allgemeinen arterhaltende Wirkung haben (Johannsen u. a.)

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:02 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Außerdem ist die Entstehung der Varianten nur durch einen an sich sehr unzweckmäßigen Vorgang ermöglicht. Die Fluktuanten z. B. entstehen erst von einem gewissen Alter der Kultur ab, wahrscheinlich als die letzten noch wachsenden Individuen. Man muß annehmen, daß sie durch Proliferation normaler Individuen entstehen und daß diese Proliferation unter dem stärksten Einfluß der Stoffwechselprodukte vor sich geht. Hierdurch werden die Individuen im Zustande ihrer Entstehung, d. h. in einer sensiblen Periode (Tower) von den Stoffwechselprodukten beeinflußt und erblich abgeändert. Diese Wachstumsbedingungen bringen eine Gelegenheit zur Schädigung mit sich, denn die Fluktuanten sterben in der gleichen Kultur, in der sie entstehen, rascher ab, als die ältesten normalen Individuen. Diese befinden sich schon längst im Latenzstadium des Wachstums, bevor die Stoffwechselprodukte eine schädliche Konzentration erreicht haben; sie werden in diesem Zustande weniger durch die Stoffwechselprodukte geschädigt. Es werden also bei Aussaat sehr alter Kulturen (3—4 Monate) nur normale Kolonieen erhalten. Die Variation wird auf Grund des Vorstehenden dadurch ermöglicht, daß das Wachstum der Bakterien auch nach Anhäufung der Stoffwechselprodukte noch eine Zeitlang weitergeht. Es führt aber unter diesen Umständen zur Schädigung des Individuums. Die Variation ist also wenigstens in ihrer Entstehung mit einem unzweckmäßigen Vorgang verbunden.

II. Teil.

Ueber die Virulenz vom Standpunkte der Vererbungs- und Variabilitätsforschung.

Die Aenderungen der Morphologie und des Stoffwechsels, welche bisher als Erscheinungen der Variabilität beschrieben wurden, gehen parallel mit Aenderungen der Virulenz. Es wird dadurch möglich, dem Problem der Virulenz vom Standpunkt der Vererbungs- und Variabilitätsforschung nachzugehen, worauf ich schon früher gelegentlich der Untersuchungen über die Mutationserscheinungen hinwies.

Als Virulenz wird jetzt allgemein die Summe aller spezifisch krankmachenden Wirkungen eines Mikroorganismus bezeichnet (v. Wassermann (40). Die Grundbedingung der Pathogenität ist aber die Fähigkeit einer Bakterienart, sich in einem höheren Organismus zu behaupten und zu vermehren; die Giftwirkung ist erst eine sekundäre Erscheinung der Infektion. Ich möchte deshalb in Anknüpfung an Bail als Virulenz die Fähigkeit der Bakterien bezeichnen, innerhalb des Funktionsbereichs eines Makroorganismus den bakterienfeindlichen Kräften zu widerstehen und sich zu vermehren. Der Begriff der Virulenz deckt sich also mit dem der Aggressivität (Bail).

Virulenz des normalen Phänotypus und deren Vererbung: Die Virulenz des typischen Friedländer-Bacillus wurde mit Kulturen geprüft, die frisch aus dem Herzblut von Tieren angelegt waren oder von phänotypisch normalen Kulturen stammten. Es wurden 24—48 stündige Bouillon- und Agarkulturen verwendet. Für das Kaninchen liegt die tödliche Dosis frischer Bouillonkulturen bei intraperitonealer Infektion zwischen 1 und 2 ccm, manchmal sind auch 2 ccm nicht tödlich. Agarkulturen von gleichem Alter sind wesentlich infektiöser, es genügen 0,2 ccm des in 5 ccm physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmten dickschleimigen Bakterienrasens einer Agarkultur oder 0,2 ccm des infizierten Kondenswassers meist zur rasch (12—24 Stunden)

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:02 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

tödlich verlaufenden Infektion. Wahrscheinlich genügen von den Agarkulturen deshalb geringere Mengen, weil die auf dem Agar gebildete Kapselsubstanz viel kompakter ist.

Aeltere Bouillonkulturen (3—4 Wochen) sind merkwürdigerweise wesentlich virulenter. Sie töten das Kaninchen bei intraperitonealer Infektion in kürzerer Zeit und geringerer Dosis. Es üben hier wohl frei gewordene Endotoxine eine Aggressinwirkung aus. Oft sterben die Kaninchen auch erst nach vielen Tagen. Es sind dann keine lebenden Bacillen mehr in ihnen nachzuweisen.

Das Meerschweinchen ist wesentlich empfänglicher. Frische Bouillonkulturen sind bei intraperitonealer Infektion in der Dosis von 0,01 ccm, oft auch 0,001 ccm in wenigen Tagen tödlich. Subkutan wird oft 0,1 ccm überstanden.

Am empfänglichsten ist die weiße Maus. Sie geht bei 0,0000001 ccm bis 0,0000000001 ccm Bouillonkultur in 20—40 Stunden ein. Dabei ist eine massenhafte Vermehrung der Keime im Blut zu beobachten. Es ist gleichgültig, ob subkutan oder intraperitoneal infiziert wird.

Es ist von geringer Bedeutung für die Virulenz, ob der Bacillus frisch aus dem Tierkörper gezüchtet ist, auch aus welcher Tierart, oder ob er aus einer phänotypisch normalen Kultur stammt. Ist die Kapsel in normaler Weise ausgebildet, so ist auch die Virulenz die angegebene. Die Morphologie des Bacillus erhält sich, wie schon angegeben, durch Kultivierung auf Agarplatten (Plattenguß) unverändert. Zugleich damit wird auch die Virulenz in fast unverändertem Grade vererbt.

Wenn ich mich jetzt dazu wende, die Beeinflussung der Virulenz durch die verschiedenen Variationsformen zu schildern, so bemerke ich, daß ich nur die groben, jederzeit deutlichen Virulenzunterschiede berücksichtige.

Die Modifikation bringt bei den meisten Individuen der modifizierten Kolonieen eine Hemmung der Kapselbildung mit sich, die jedoch unter bestimmten Umständen rasch wieder in die normale Kapselbildung übergeht. Sie beeinflußt die Virulenz in deutlicher Weise nur beim Kaninchen. Hier wird die ohnehin niedrige Virulenz noch weiter in geringem Grade herabgesetzt, ohne aber ganz zu verschwinden. Wird durch Aussaat einer modifizierten Kultur auf Agarplatten ein Teil der Kolonieen wieder zu typischen Wachstum gebracht, so ist die ursprüngliche Virulenz wieder vorhanden. Gegenüber dem Meerschweinchen und der Maus beeinflußt die Modifikation auch in ihren extremen Graden die Virulenz in ganz unwesentlichen, kaum regelmäßig zu konstatierendem Grade [1]).

Diese Beobachtung deckt sich vollkommen mit der von Gruber über die Milzbrandinfektion mitgeteilten. Der gekapselte Milzbrandbacillus (aus Serumkulturen) ist auch für den relativ resistenten Hund virulent, der nicht gekapselte avirulent. Für empfängliche Tiere ist jedoch der gekapselte und der ungekapselte Bacillus in gleicher Weise virulent. Die Modifikation kann also auch bei anderen Bakterien die Virulenz gegenüber weniger empfänglichen Tieren deutlich beeinflussen.

Die Mutation hat, wie ich schon früher mitteilte, einen sehr beträchtlichen Einfluß auf die Virulenz. Durch die Mutation entsteht aus dem breiten Stäbchen mit breiter Membran und Kapsel ein schlankes Stäbchen mit nur sehr schmaler Membran, ohne Kapsel. Die Virulenz der Mutante ist für Kaninchen und Meerschweinchen gleich Null, nur durch enorme Dosen wird das Tier infolge der Giftwirkung des artfremden Proteins getötet. Auch für die Maus ist die Virulenz fast vollständig verloren gegangen. Oft vertragen die Mäuse 1 ccm Bouillonkultur der Mutante.

1) Bei den Fluktuanten dagegen beeinflußt die Modifikation die Virulenz wesentlich deutlicher (cf. später).

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:02 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Man muß demnach, wenn man durch Tierpassagen den Rückschlag erzielen will, ganz enorme Dosen verwenden, welche man am besten durch dichte Aufschwemmung einer Agarkultur erhält. Der Rückschlag tritt zur Zeit, d. h. nach $2^1/_2$jähriger Kultivierung der Mutante auf künstlichen Nährböden, meist in der 2. oder 3. Mauspassage ein. Die Virulenz ist mit dem Rückschlag sofort wieder die ursprüngliche, ohne vorher eine allmähliche Steigerung erfahren zu haben.

Von Interesse für die Pathologie ist, daß der Rückschlag der Mutante auch dann zur ursprünglichen hohen Virulenz führt, wenn er auf künstlichen Nährböden eintritt. Es sind also zur Virulenzsteigerung avirulenter Mutanten gar keine Tierpassagen nötig. Diese Tatsache kann bei der Entstehung autochthoner Epidemieen und bei Autoinfektionen eine Rolle spielen.

Daß die Mutation einen beträchtlichen Einfluß auf die Virulenz ausüben kann, hat ungefähr gleichzeitig mit mir Baerthlein (27) beim Diphtheriebacillus beobachtet. Auch die von v. Lingelsheim (28) am Typhusbacillus angestellte Beobachtung spricht in diesem Sinne.

Die Fluktuation führt ebenfalls zu einer deutlichen Virulenzänderung. Wir sahen, daß die Fluktuation zur Entstehung dreier konstanter Varianten führt, von denen jede folgende das Vermögen, Kapseln zu bilden, in zunehmendem Grade verloren hat. Die extreme Fluktuante besitzt fast gar kein Kapselbildungsvermögen mehr. Ganz parallel damit nimmt auch die Virulenz der einzelnen Fluktuanten ab, wie dies aus folgender Tabelle der frisch isolierten Fluktuanten kurz hervorgeht:

Fluktuante I	0,01	Bouillonkultur tötet die Maus in 36 St.
	0,001	„ „ „ „ „ 52 „
Fluktuante II	0,1	„ „ „ „ „ 36 „
	0,01	„ „ „ „ „ 50 „
Fluktuante III	0,5	„ „ „ „ „ 7 Tagen, Blut steril
	0,1	„ bleibt die Maus am Leben.

Die Fähigkeit, die Kapsel in verschiedenem Grade zu bilden, bleibt bei den Fluktuanten erblich in gleicher Weise bestehen. Aus folgender Tabelle ist die Virulenz der Fluktuanten, nachdem sie $^3/_4$ Jahre durch das Plattengußverfahren gezüchtet sind, ersichtlich:

Fluktuante I	0,01	tötet die Maus in 48 St.
	0,001	„ „ „ „ 60 „
Fluktuante II	0,1	„ „ „ „ 60 „
	0,01	„ „ „ „ 62 „
Fluktuante III	1,0	„ „ „ „ 60 „
	0,1	die Maus bleibt am Leben

Daraus folgt, daß mit Erhaltung der Morphologie der einzelnen Fluktuanten auch die Virulenz in gleicher Weise erhalten bleibt.

Durch eine im Vergleich zu der Mutante und der modifizierten Abart sehr große Zahl von Tierpassagen läßt sich die Virulenz langsam steigern. Die extreme Fluktuante z. B. zeigt folgende Virulenzzunahme:

Vor der Mauspassage	0,1	Maus bleibt am Leben	
Nach der 20. Mauspassage	0,01	„ „ „ „	
„ „ 40. „	0,01	Maus stirbt in 48 St.	subkutan
„ „ 60. „	0,01	„ „ „ 30 „	infiziert
„ „ 80. „	0,01	„ „ „ 30 „	
	0,000001	„ „ „ 4 Tagen	

Zugleich nimmt damit die Kapselbildung in merklichem Grade zu, hat aber schon nach einigen Tierpassagen einen gewissen Endwert erreicht und ist nach der 80. Passage noch nicht wieder so stark ausgebildet wie bei Fluktuante II. Wird jetzt die Kultivierung wieder auf künstlichen Nährböden fortgesetzt, so nimmt die Virulenz und ebenso

Generated on 2019-09-15 15:02 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

die Kapselbildung allmählich wieder ab. Daraus folgt, daß die vorausgegangene Steigerung der Virulenz und der Kapselbildung durch Tierpassagen nur auf Modifikation beruhte und daß sie die für Fluktuante III erblich konstante Variationsbreite nicht überschritt. Die Abnahme der Virulenz vollzieht sich, soweit bisher beobachtet, langsam, in mehreren Kulturgenerationen (pseudohereditäre Nachwirkung).

Aus all dem ergibt sich, daß die Virulenz außerordentlich von dem Grade der Kapselbildung abhängig ist und ebenso wie die Kapselbildung den Gesetzen der Variabilität und Vererbung unterworfen ist. Die gleichen Bedingungen, welche die normale Entfaltung der kapselbildenden Anlagen hemmen oder gar zu Verlust bringen, setzen die Virulenz herab. Es wird dadurch verständlich, in welcher Weise die Stoffwechselprodukte der Bakterien die Virulenz beeinflussen. Das Wachstum des normalen Typus im Tierkörper findet ebenso wie das Wachstum aus isolierten Keimen beim Plattengußverfahren ohne die Anhäufung von Stoffwechselprodukten der Bakterien statt. Wahrscheinlich spielen aber, wie schon früher bemerkt, beim Wachstum im Tierkörper noch bestimmte, an diesen gebundene Reize bei der Entfaltung des normalen Phänotypus eine Rolle. Wir müssen annehmen, daß sich der normale Typus in Anpassung an diese Bedingungen zu seinem charakteristischen, parasitären Gesamthabitus entwickelt hat. Die künstliche Kultivierung stellt für den Parasiten eine wesentliche Aenderung in seinen Lebensbedingungen dar. Gelingt es, die abändernden Reize dabei geringer zu gestalten, als es das Beharrungsvermögen der parasitären Anlagen ist, so erhält sich auch die Virulenz ohne weiteren Aufenthalt des Bacillus im Tierkörper unverändert, gehen aber durch stärker wirkende abändernde Reize Erbeinheiten, deren Entfaltung für den parasitären Zustand charakteristisch ist, in ihrer Funktion zurück bzw. ganz verloren, so muß damit auch ein Verlust der Virulenz verknüpft sein.

Damit soll natürlich nicht gesagt sein, daß dieser Wirkungsmechanismus für alle Bakterien gilt. Viele pathogene Bakterien verlieren auf künstlichen Nährböden schon deshalb ihre Virulenz, weil die Ernährungsbedingungen allein für ihre Existenz nicht genügen oder weil sie in den veränderten Bedingungen nicht lange lebensfähig sind, wobei die Einwirkung von Stoffwechselprodukten mit in Betracht kommt. Für Bakterienarten jedoch, die außerordentlich gut auf künstlichen Nährböden gedeihen und monatelang ohne Uebertragung lebensfähig bleiben, wie der Friedländer-Bacillus, dürfte die Herabsetzung der Virulenz durch Hemmung bestimmter Anlagen verursacht sein.

In unserem Falle gingen die durch künstliche Kultivierung hervorgerufenen Aenderungen hinsichtlich der Morphologie und Virulenz einander parallel. Die Kapselbildung war zur Klarstellung dieser Verhältnisse ein sehr geeigneter Indikator. Doch brauchen Aenderungen der Virulenz nicht immer an derart auffallende morphologische Aenderungen gebunden zu sein, wie z. B. die Beobachtungen über die Virulenzschwankungen der Diphtherie- und Typhusbacillen durch Mutation beweisen. Meist ist aber auch bei Bakterien, welche ein Kapselbildungsvermögen nicht besitzen, mit der durch künstliche Kultivierung hervorgerufenen Virulenzabschwächung eine Abnahme des Ektoplasmas verbunden, welches nach den Untersuchungen Eisenbergs (25) von wesentlicher Bedeutung für die Virulenz ist. Es ist also Aussicht vorhanden, die Schwankungen der Virulenz auch bei anderen, nicht kapselbildenden Bakterien mit morphologischen Abänderungen in Parallele zu bringen und vom Standpunkt der Variabilitätsforschung zu analysieren. Denn die Varianten lassen sich hauptsächlich nur durch ihre morphologischen Eigenschaften erkennen.

Auf Grund des Verhaltens der Virulenz bei den Vererbungs- und Variabilitätsversuchen ist es möglich, über die Bedeutung der einzelnen Bestandteile des Bakterienleibes für die Virulenz Aufschlüsse zu erhalten. Daß die Kapseln bei den pathogenen Kapselbildnern mit der Virulenz in engem Zusammenhang stehen und die Virulenz erhöhen, ist längst bekannt. Die Ansichten über die Wirkungsweise der Kapseln gehen

Generated on 2019-09-15 15:02 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

aber noch weit auseinander. Auf jeden Fall sprechen sich die meisten Autoren dahin aus, daß die Kapsel eine bedeutende Schutzwirkung für das Bakterium entfaltet. In dieser Frage angestellte Versuche ergaben nun, daß es für die Schutzwirkung der Kapsel gleichgültig ist, unter welchen Bedingungen sie vor dem Hineingelangen des Bacillus in den Tierkörper gebildet wurde, wie auch Kodama (36) beim Milzbrandbacillus beobachtete. Man kann zur Infektion jede typische Kultur, welche aus dem Blute einer beliebigen Tierart (Maus, Meerschweinchen oder Kaninchen) gewonnen wurde, verwenden. Die Virulenz für beliebige Tierarten ist je nach dem Grade ihrer natürlichen Empfänglichkeit die gleiche. Es ist auch für die Schutzwirkung der Kapsel gleichgültig, ob eine modifizierte, also fast kapsellose Kultur, durch Tierpassagen oder durch Selektion mittels des Plattengußverfahrens, die Kapselbildung wieder gewinnt. Auch der Rückschlag der avirulenten Mutante bringt, mag er durch Tierpassagen oder spontan in künstlichen Kulturen erfolgen, zugleich mit der Kapselbildung die Virulenz wieder mit sich, und zwar für alle empfänglichen Tierarten. Wir müssen daraus schließen, daß die Kapsel in unspezifischer Weise den Bacillus schützt, d. h. es kommt für die Wirkung der Kapsel nicht in Betracht, ob sie durch einen spezifisch vom Tierkörper ausgehenden Reiz oder spontan auf künstlichen Nährböden gebildet wird, und es ist für die Wirkung der Kapsel gegenüber einer bestimmten Tierart gleichgültig, in welcher Tierart die Kultur ihr Kapselbildungsvermögen erwarb. Mir scheint es demnach als das Wahrscheinlichste, daß die Kapseln nicht durch Aggressinwirkung, sondern vorwiegend physikalisch-chemisch an der Virulenz beteiligt sind, indem sie die Bakterien nach Art der schleimigen Substanzen gegen die gelösten, bakterienfeindlichen Stoffe des Tierkörpers und gegen die cellulären Elemente schützen (cf. Fischoeder, 37, und die von ihm zitierten Befunde Behrings u. a.). Die Wirkung der Kapsel hätte man also so zu verstehen, daß sie infolge ihrer viskösen Beschaffenheit die Diffusion der bakterienfeindlichen Serumstoffe erschwert und vielleicht auch durch ihre Größe die Phagocytose unmöglich macht, denn die bekapselten Bacillen sind ebenso groß wie die Leukocyten.

Doch ist die Schutzwirkung der Kapseln nur eine beschränkte, denn manche mit breiten Schleimhüllen versehene andere Bakterienarten sind avirulent. Auch beim Friedländer-Bacillus genügt der Kapselschutz nicht dazu, um dem Bacillus im Kaninchen zu einiger Virulenz zu verhelfen. Andererseits ist die kapsellose, modifizierte Form, wenn sie die Kapselbildung auch nur vorübergehend eingestellt hat, doch fast ebenso virulent. Auch alte Kulturen des normalen Typus, in denen die Kapseln durch Autolyse vollkommen verloren gegangen sind, haben besonders für die Maus fast die gleiche Virulenz wie frische Kulturen mit breiten Kapseln. Ferner ist die Fluktuante III, welche nur breites Ektoplasma, aber keine nachweisbare Kapsel mehr besitzt, doch wesentlich virulenter als die ebenfalls kapsellose, nur mit Ektoplasma versehene Mutante.

Wir können deshalb die Ursache für die Virulenz nicht allein in dem Schutze der Kapsel suchen, sondern müssen annehmen, daß eine weitere Komponente der Virulenz an den Bakterienleib selbst gebunden ist. Für diese Annahme spricht weiterhin die Tatsache, daß die Fluktuante III durch 80 Mauspassagen die mittlere Virulenz der Fluktuante II erreichte, ohne daß die Kapselbildung in gleicher Weise zunahm. Diese der Kapselbildung nicht vollkommen parallel gehende Komponente der Virulenz erstreckt sich hauptsächlich gegen die Tierspecies, durch welche

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:02 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

die Virulenzsteigerung eintrat. Denn die Fluktuante III ist nach 80 Mauspassagen für die Maus ebenso virulent wie die mit breiteren Kapseln versehene Fluktuante II; die Fluktuante II ist aber für das Meerschweinchen virulenter als die weniger gekapselte Fluktuante III nach 80 Mauspassagen. Aehnliche Verhältnisse sind auch bei anderen Bakterienarten, die schon normalerweise keine Kapseln besitzen, zu beobachten. So erstreckt sich die Virulenz kapselloser Streptokokken oft nur gegen diejenige Tierspecies, durch welche die Passagen vorgenommen wurden, und geht für diese Tierspecies durch Passagen in einer anderen Tierart verloren. Daraus ist ersichtlich, daß es eine morphologisch unsichtbare, im eigentlichen Bakterienleib (Endo- und Ektoplasma) lokalisierte Komponente der Virulenz geben muß, welche im Gegensatz zu der durch die Kapsel bedingten eine spezifische Wirkung besitzt, d. h. von der Tierspecies und der Bakterienart abhängig ist.

Worin diese an die Arteigentümlichkeit des Bakteriums gebundene Komponente der Virulenz besteht, ist noch nicht entschieden. Auf jeden Fall muß es sich um eine Widerstandsfähigkeit gegen die Schutzstoffe des Tierkörpers handeln. Die Annahme von Seitenketten im Bakterienprotoplasma, welche die tierischen Schutzstoffe neutralisieren oder von lebenswichtigen Teilen des Bakterienleibes ablenken sollen, erscheint mir auf Grund der bisher ermittelten Tatsachen zu sehr spezialisiert. Auch erklärt diese Annahme nicht den höchsten Grad der Virulenz. Hier genügt unter Umständen ein einziges Bakterium zur tödlichen Infektion. Es ist aber nicht wahrscheinlich, daß ein einzelnes Bakterium so viel Seitenketten besitzt, um alle Schutzstoffe des Tierkörpers zu binden oder abzulenken. Da die Schutzstoffe des Tierkörpers gegen artfremde Proteine, wie die neuere Forschung zeigt, meist fermentativer Natur sind und fermentative Vorgänge wohl jeder Bakterizidie vorausgehen, könnte man meines Erachtens eine Fermentfestigkeit des Bakterienprotoplasmas als allgemeinste Erklärung für die Widerstandsfähigkeit gegen die tierischen Schutzstoffe annehmen (cf. Referat des Vortrages im Erlanger Bezirksverein, November 1913, Münch. med. Wochenschr., 1914). Diese Fermentfestigkeit wäre dann in ihrer Wirkung abhängig von zwei Faktoren: der Konstitution des Bakterienprotoplasmas, also seiner Arteigentümlichkeit, und dem Reichtum des Tierkörpers an wirksamen, natürlichen Schutzstoffen (Fermenten), also von der Tierspecies. Diese Auffassung wird der bei jeder Infektion wahrnehmbaren Wechselbeziehung zwischen Tier- und Bakterienspecies am ehesten gerecht.

Die in der Konstitution des Bakterieneiweißes begründete primäre Fermentfestigkeit kann durch Tierpassagen bis zu einem gewissen Grade gesteigert werden, vermutlich dadurch, daß das Bakterium die Fähigkeit besitzt, Stoffe zu bilden, welche den bakteriziden Kräften des Tierkörpers irgendwie entgegenwirken (Antifermente? — freie oder seßhafte Aggressine?). Diese Steigerung der Virulenz ist also eine Funktion des Bakterienstoffwechsels, welche sich auf den spezifischen Reiz bis zu einem bestimmten Grade ausbilden kann und bei Wegfall des Reizes wieder zurückgeht. Sie beruht auf Modifikation, wie aus den Virulenzänderungen der Fluktuante III hervorgeht, während die primäre Fermentfestigkeit eine genotypische Eigenschaft ist.

Da die Kapsel nicht allein für die Virulenz maßgebend ist und da trotzdem bei der extremen Fluktuation mit dem fast völligen Verschwinden der Kapsel auch die Virulenz fast ganz verloren geht, darf man annehmen, daß für diesen Virulenzverlust noch andere, morphologisch nicht wahrnehmbare Veränderungen am Bakterienleib selbst verantwortlich zu machen sind. Es ergibt sich hieraus, daß die Kapsel nur eine Teilerscheinung des parasitären Zustandes ist [wie auch Nunokawa (29) und Kodama (36) vermuten], und daß bei der Fluktuation noch andere, morphologisch nicht sichtbare, aber für die Virulenz maßgebende Funktionen des Bakteriums abgeändert werden. Diese können, wie schon erwähnt, durch Tierpassagen eine der Kapselbildung nicht vollkommen parallel gehende, begrenzte Steigerung erfahren (im Sinne einer Modifikation). Trotz des weitgehenden Parallelismus zwischen Virulenz und Kapselbildung müssen wir also erkennen, daß die Aenderungen der Virulenz nicht in ursächlicher, sondern nur zufälliger Weise an morpho-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:02 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

logische Aenderungen gebunden sind. Im ganzen folgt aus dem Verhalten der Varianten im Tierkörper, daß die Virulenz auf dem Zusammenwirken dreier Faktoren beruht: Der Arteigentümlichkeit des Bakteriums und des infizierten Tierkörpers in spezifischer sowie der Bakterienkapsel in unspezifischer Weise. Meine Befunde bilden in dieser Beziehung eine Bestätigung der Virulenztheorie Eisenbergs (25).

Ich möchte die Untersuchungen über Vererbung und Variabilität der Virulenz nicht abschließen, ohne zu dem Problem der Entstehung der Virulenz Stellung zu nehmen. Es ist experimentell noch nicht gelungen, eine saprophytische Bakterienart durch Anpassung an den Tierkörper in eine parasitische zu verwandeln oder auch nur eine für eine gewisse Tierspecies avirulente Bakterienart für diese Tierspecies virulent zu machen. Trotzdem müssen wir annehmen, daß die pathogenen Bakterienarten aus den saprophytischen durch sogenannte „Anpassung" an den Tierkörper, beispielsweise an eine Säugetierart, entstanden sind. Denn die Bakterien waren sicher schon vor den Säugetieren da und waren ursprünglich nicht „virulent"; aber sie hatten, als die Säugetiere bzw. deren Vorstufen entstanden, wohl alle in gleichem Maße Gelegenheit, mit dem Säugetierkörper in Berührung zu kommen und sich eventuell zunächst an die Existenz im toten Tierkörper, der ja weniger bakterizide Kräfte besitzt als der lebende, zu gewöhnen. Aber nur ein Teil der Bakterien erwarb die Eigenschaft der Virulenz. Es handelt sich also bei der Entstehung der Virulenz um den Gewinn einer neuen, und zwar erblichen Eigenschaft. Wie für jede neu entstehende, in der Erbsubstanz fixierbare Eigenschaft müssen wir auch für die Entstehung der Virulenz eine in der Vererbungssubstanz vorhandene Fähigkeit als Grundbedingung voraussetzen (cf. die einleitenden Bemerkungen über die Vererbung erworbener Eigenschaften). Die an das Dasein im Tierkörper gebundenen Reizwirkungen konnten nur bei denjenigen Bakterienarten die Entstehung der Virulenz zur Folge haben, bei denen sie eine in der Konstitution des Idioplasmas vorhandene, aber noch ungeweckte Differenzierungsfähigkeit trafen. Wir müssen also annehmen, daß die Virulenz der Parasiten zwar unter Anpassung an den Tierkörper, aber auf Grund innerer Fähigkeiten entstanden ist. Auch die experimentellen Tatsachen zwingen uns zu dieser Annahme, und es wird so erklärlich, weshalb es noch nicht gelungen ist, Saprophyten in Parasiten experimentell umzuwandeln, ja weshalb derartige Versuche von vornherein aussichtslos erscheinen. Es ist aber trotzdem die Möglichkeit, daß noch neue Krankheitserreger durch ihre natürliche Entwickelung aus jetzt noch avirulenten Arten hervorgehen können, nicht von der Hand zu weisen.

Zusammenfassung.

Die Erscheinungen der Vererbung und Variabilität beruhen auf einer Wechselwirkung zweier Faktoren: Dem Beharrungsvermögen der Erbeinheiten einerseits, der Reaktion der Erbeinheiten auf äußere, das Beharrungsvermögen übertreffende Reize andererseits.

Die natürlichen Existenzbedingungen, welche den Phänotypus der verwendeten reinen Linie (Pneumoniebacillus Friedländer) unverändert erhalten, sind durch den Aufenthalt im Tierkörper gegeben. Die abändernden Reize sind die bei der künstlichen Kultivierung sich an-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:02 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

häufenden Stoffwechselprodukte, welche je nach Intensität und Dauer ihrer Einwirkung die verschiedenen Variationsformen bewirken.

Als Indikator für die eingetretene Variation war eine auch morphologisch wahrnehmbare Eigenschaft, nämlich die Kapselbildung, sehr brauchbar. Die Kapselbildung stellte sich als polygenes Merkmal heraus, welches zu verschiedenen Graden der Abänderung befähigt ist. Außerdem zeigte sich die Variation morphologisch noch durch Veränderungen des Ekto- und Endoplasmas an. Sämtliche durch die Stoffwechselprodukte (Wachstum im zusammenhängenden Bakterienrasen) erzielten Veränderungen waren retrogressiv, d. h. sie bestanden in einer Abnahme normaler, sichtbarer Eigenschaften und sind zurückzuführen auf eine Hemmung bzw. Verlust von Stoffwechselfunktionen durch Anhäufung von Stoffwechselprodukten.

Die Vererbung des unveränderten parasitären Phänotypus fand auch bei künstlicher Kultivierung, also ohne fortdauernde Einwirkung der vom Tierkörper ausgehenden, spezifischen Reize, statt, wenn nur die Anhäufung der Stoffwechselprodukte vermieden wurde (Wachstum in isolierten Keimen). Dadurch war die Vererbung allein auf das Beharrungsvermögen der Erbeinheiten zurückgeführt.

Sämtliche, experimentell mögliche Variationen wurden erzielt. Dies sind:

1) Die Modifikation. Durch gelindeste Einwirkung der Stoffwechselprodukte (wiederholte Uebertragung auf Schrägagar) geht eine Eigenschaft des normalen Bacillus, nämlich die Kapselbildung, allmählich zurück, kommt aber durch Tierpassagen und beim Wachstum in isolierten Kolonieen sofort wieder zur vollen Entfaltung. Die Modifikation besteht in der Reaktionsfähigkeit der Anlagen auf einen Wechsel in den äußeren Bedingungen. Die Anlagen selbst verändern sich dabei nicht. Die Modifikation ist also nicht erblich.

2) Die Mutation. Durch stärkere Einwirkung der Stoffwechselprodukte geht die Kapselbildung plötzlich ganz verloren, und zwar nur bei einem Teil der Individuen einer Kultur. Zugleich tritt eine auffallende Reduktion des Ekto- und Endoplasmas ein. Diese Veränderung ist bei der üblichen Art der Uebertragung erblich, schlägt aber durch Tierpassagen oder durch Aussaat alter Kulturen wieder in ihren Ausgangstypus zurück. Es handelt sich um eine Zustandsänderung von Erbeinheiten. Die retrogressive Mutation beruht auf dem Inaktivwerden von Anlagen, der Rückschlag, d. h. die progressive Mutation, auf dem Aktivwerden latenter Anlagen.

3) Die Fluktuation. Durch stärkste Einwirkung der Stoffwechselprodukte entstehen mehrere Varianten, die sich immer nur in sehr spärlicher Zahl finden und nach dem Grade ihrer Abweichung eine kontinuierliche Reihe bilden. Die Kapselbildung geht dabei in verschiedenem Grade (3 Zwischenstufen) verloren, jede Variante ist für sich erblich

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:02 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

absolut konstant. Rückschläge sind auf keine Weise (80 Tierpassagen) herbeizuführen. Die Fluktuation wurde also nur als retrogressive Fluktuation beobachtet. Man muß annehmen, daß sie in einem Verlust von Erbeinheiten besteht.

Obwohl die retrogressive Fluktuation bisher nicht wieder rückgängig gemacht werden konnte, ist doch nicht absolut bewiesen, daß sie wirklich zur Ueberschreitung der Artgrenzen geführt hat. Es kann sich lediglich um Verlust von Anlagen bei erhaltener Fähigkeit, diese Anlagen äußerst langsam wieder zu bilden, handeln. Auf jeden Fall ist aber bewiesen, daß diejenige Variation, welche zu erblich konstanten Veränderungen führt, nicht sprunghaft, sondern in kontinuierlichen Reihen stattfindet.

Ueberblickt man die Bedeutung sämtlicher Variationen hinsichtlich der Artbeständigkeit, so folgt, daß sich die genotypische Konstitution der reinen Linie den experimentell erzielbaren Einflüssen gegenüber als außerordentlich stabil erwies; sie wurde durch die Modifikation und Mutation nicht verändert. Inwiefern die retrogressive Fluktuation den Genotypus verändert, ist noch nicht mit Sicherheit zu entscheiden.

Die morphologischen Veränderungen, welche sich stets auf eine bestimmte Variationsform zurückführen ließen, gingen parallel mit Aenderungen der Virulenz. Die Modifikation beeinflußte die Virulenz des normalen Typus nur wenig. Bei der Mutation ging die Virulenz vollständig verloren, kehrte aber beim Rückschlag sofort wieder zur ursprünglichen Höhe zurück. Die Fluktuation bewirkte parallel mit dem Grade der morphologischen Abänderung einen zunehmenden Virulenzverlust. Durch Tierpassagen ließ sich aber die Virulenz der Fluktuanten wesentlich steigern, wobei die Kapselbildung nicht vollkommen parallel zunahm. Die Virulenz erstreckte sich dann hauptsächlich gegen die zu den Passagen verwendete Tierart. Durch künstliche Kultivierung verlor sie sich rasch wieder (Modifikation).

Das Verhalten der Varianten im Tierkörper eröffnet also einen neuen Weg zur Erforschung des Virulenzproblemes durch die Methoden der experimentellen Erblichkeitslehre und brachte zugleich Aufschlüsse über die Bedeutung der einzelnen Bestandteile des Bakterienleibes für die Virulenz. Im ganzen ergab sich dabei, daß sich die Virulenz aus 3 Faktoren zusammensetzt: Der Arteigentümlichkeit des Bakteriums und des infizierten Tierkörpers in spezifischer, der Bakterienkapsel in unspezifischer Weise.

Literatur.

1) Darwin, Die Entstehung der Arten. 1859.
2) Nägeli, Mechanisch-physiologische Theorie der Abstammungslehre. 1884.
3) de Vries, Die Mutationstheorie. 1901 u. 1903.
4) Hertwig, Oskar, Allgemeine Biologie. 1912.
5) Hertwig, Richard, Lehrbuch der Zoologie. 1912.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:02 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

6) Weismann, Vorlesungen über Deszendenztheorie. 1913.
7) Heim, Lehrbuch der Bakteriologie. 4. Aufl.
8) Plate, Vererbungslehre. 1913.
9) —, Selektionsprinzip. 1913.
10) Johannsen, Elemente der exakten Erblichkeitslehre. 1913.
11) Baur, Einführung in die experimentelle Vererbungslehre. 1911.
12) Roux, Ueber die bei der Vererbung von Variationen anzunehmenden Vorgänge. 1913.
13) Goldschmidt, Einführung in die Vererbungswissenschaft. 1913.
14) Haecker, Allgemeine Vererbungslehre. 1912.
15) Pringsheim, Die Variabilität niederer Organismen. 1910. Hier ausführliche Literaturangaben über die Einzelbefunde.
16) Kruse, Allgemeine Mikrobiologie. 1910.
17) Gotschlich, Kolle-Wassermanns Handbuch. 2. Aufl. Bd. 1. 1912.
18) Beijerinck, Mutation bei Mikroben. (Folia microbiol. 1912.)
19) Baerthlein, Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamte. 1912. und die dort zitierten Arbeiten des gleichen Verf.
20) Eisenberg, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 63 u. 66.
21) Wilde, Ueber den Bacillus pneumoniae Friedländers. [Diss.] Bonn 1896.
22) Toenniessen, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 69.
23) Müller, Reiner, München. med. Wochenschr. 1909.
24) Neisser u. Massini, Arch. f. Hyg. 1907.
25) Eisenberg, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 45. (Ektoplasmatheorie.)
26) Preisz, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 58.
27) Baerthlein, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 57. (7. Tagung der Freien Vereinig. f. Mikrobiol. Berlin 1913.)
28) v. Lingelsheim, Centralbl. f. Bakt. Abt I. Orig. Bd. 68.
29) Nunokawa, Nach Ref. im Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 46. p. 355.
30) Bail, Folia serolog. Vol. 7. 1911. H. 1—3.
31) Kolle, Spezifizität der Infektionserreger. (Kolle-Wassermanns Handbuch. 2. Aufl. Bd. 1.
32) Lehmann-Neumann, Atlas u. Grundriß der Bakteriol. 1912.
33) Toenniessen, Verhandl. d. XXX. Kongr. f. inn. Med. Wiesbaden 1913.
34) Mazzetti, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 68.
35) Weichardt, Arch. f. Hyg. Bd. 73.
36) Kodama, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 68.
37) Fischoeder, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 51 u. 60.
38) Plate, Leitfaden der Deszendenztheorie. 1913.
39) Swellengrebel, Arch. f. Protistenk. Bd. 31. 1913.
40) v. Wassermann u. Keysser, Fr., Wesen der Infektion. (Kolle-Wassermanns Handbuch. 2. Aufl. 1912.)

Erklärung der Mikrophotogramme.

Die Mikrophotogramme verdanke ich wiederum dem liebenswürdigen Entgegenkommen Herrn Professor Heims, wofür ich Herrn Prof. Heim auch an dieser Stelle herzlichen Dank aussprechen möchte.

Fig. I. Normaler Phänotypus in Tusche aufgeschwemmt. Man sieht deutlich die Zusammensetzung des Bacillus aus Endo- und Ektoplasma sowie die Schleimhülle.

Fig. II. Agarkultur des phänotypisch normalen Bacillus, auf dem Objektträger ausgestrichen, durch Hitze fixiert und mit Methylenblau gefärbt. Sämtliche Individuen erscheinen in gleicher Weise in die Schleimsubstanz eingebettet.

Fig. III. Agarkolonie (Gußplatte), phänotypisch normal, 4 Tage alt (war 24 Stunden bei 31°, 3 Tage bei 15° C gewachsen). 7-fache Vergrößerung. Die Kolonie zeigt nur eine Spur von Radiärstreifung.

Fig. IV. Zwei in mittlerem Grade modifizierte Kolonieen, 8-fach vergrößert. Deutliche Radiärstreifung. Die konfluierende Partie ist homogen, in den normalen Typus zurückgeschlagen (Ueberwindung der pseudohereditären Nachwirkung).

Fig. V. Ausstrichpräparat einer modifizierten Kolonie (Hitzefixation, Methylenblaufärbung). Die Individuen erscheinen je nach Menge der gebildeten Kapselsubstanz heller oder dunkler.

Fig. VI. Nicht zum Abschluß gekommene Mutation. Die mutierenden Individuen erscheinen als helle Gebilde, da sie keine Schleimhüllen bilden.

Fig. VII. Die Mutation vollendet. Neben den normal gebliebenen Bacillen schlanke Stäbchen, die Mutanten.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:02 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

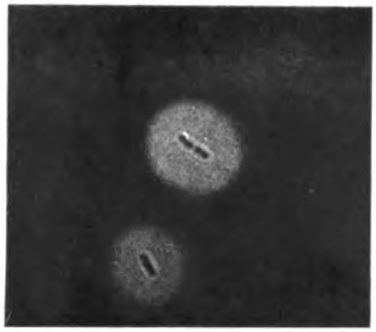


Fig. I.

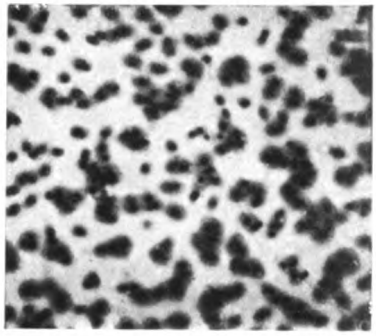


Fig. II.

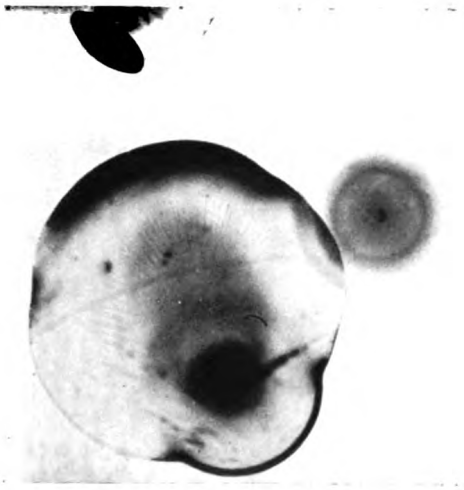


Fig. III.

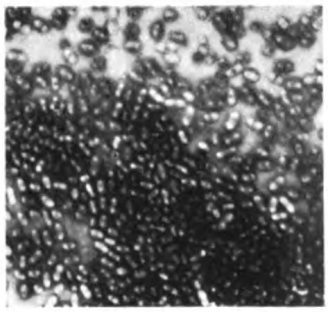


Fig. V.



Fig. IV.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:02 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Generated on 2019-09-15 15:02 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Digitized by Google

Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

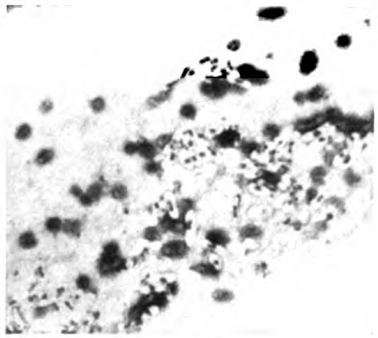


Fig. VI.

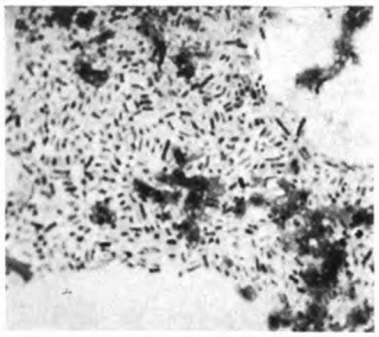


Fig. VII.



Fig. VIII.

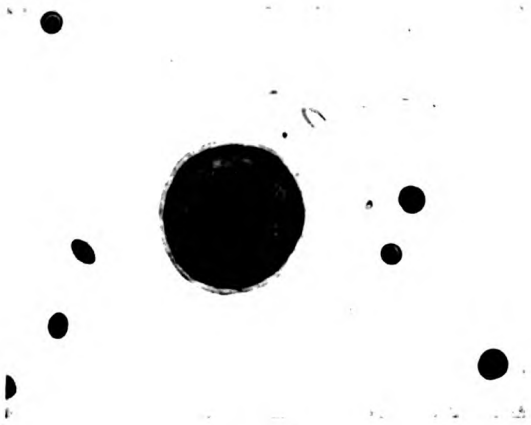


Fig. IX.

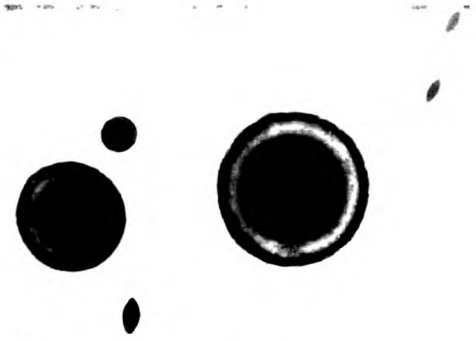


Fig. X.

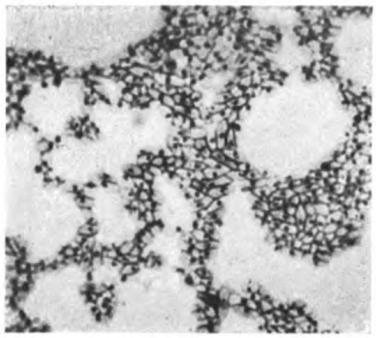


Fig. XI.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:02 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Generated on 2019-09-15 15:02 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Digitized by Google

Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

Fig. VIII. Reinkultur der Mutante.
Fig. IX. Kolonie der Mutante, 4 Tage alt, 7-fach vergrößert. Keine Radiärstreifung. Die kleinen Kolonieen sind tiefliegende.
Fig. X. Kolonie der Fluktuante III. 4 Tage alt, 7-fach vergrößert. Keine Radiärstreifung.
Fig. XI. Fluktuante III (Hitzefixation, Methylenblaufärbung). Die Schleimhüllen fehlen, das Endoplasma ist unverändert geblieben. Die Bacillen liegen als plumpe, fast farblose, säckchenförmige Gebilde eng aneinander. In ihrem Innern zeigen sie besonders deutlich die zu kugeligen oder ovalen Formen geschrumpfte Chromatinsubstanz.

Nachdruck verboten.

Further experiments on the biology of Johne's bacillus.

[From the Laboratories of the Brown Institution, University of London.]

By **F. W. Twort,** M. R. C. S., L. R. C. P., London
and
G. L. Y. Ingram, M. R. C. V. S.

In 1910 we started some experiments with the object of cultivating Johne's bacillus, and since then we have published papers (1, 2, 3, 4, 5, 6, 7) describing the results obtained. In the first place we showed that Johne's bacillus will grow on media containing the dead bodies of allied acid-fast bacilli, such as the tubercle bacilli and Bacillus phlei; and later we proved that the substance in these allied acid-fast bacilli which is essential for the growth of Johne's bacillus can be extracted by means of such solvents as glycerine and absolute alcohol. These results have been confirmed by Holth (8), by M'Fadyean, Sheather and Edwards (9), by Mellon and M'Ginnis (10), by Meyer (11), and by other workers.

In our various publications we deal also with the pathogenicity of Johne's bacillus, the production of a specific diagnostic vaccine for Johne's disease, and other points; while many experiments on the smaller animals and on certain immunity reactions have been carried out by C. C. Twort and T. Craig (12, 13, 14, 15, 16).

The "essential substance" which is necessary for the growth of Johne's bacillus, and is contained in allied acid-fast bacilli, was extracted, and to a certain extent purified, but we believed that it was present only in very small quantity in our final extract. From further experiments we concluded that the essential substance might be formed by B. phlei from such substances as glycerine and mannite, and that it might, in fact, be some oxidised product such as an organic acid formed from these or allied carbohydrates. Many experiments bearing on these points, including those carried out during the early part of last year, are given in our "Monograph on Johne's disease", and need not be further discussed here; it may, however, be mentioned, that although a large number of organic acids were tested in culture media, glycerinic acid was the only one which made a medium on which a really definite growth of Johne's bacillus was obtained; but even in this case the growth was extremely slow; and it is improbable that a culture could be got on such a medium if it were inoculated directly from the animal body.

Generated on 2019-09-15 15:02 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Attempts in other directions to determine the nature of the essential substance and to obtain substitutes proved unavailing. Now it is well known, that in the typical disease of cattle caused by Johne's bacillus, the lesions containing bacilli are limited to the intestinal tract and lymphatic glands, and, as we pointed out in our monograph, it is possible that the question of a special food supply for the bacillus may be one of the factors that influence its pathogenicity and determine its distribution in the intestinal tract and lymphatic glands. It is possible that this special food — or essential substance — is formed in the animal body; but it appears more probable that it is contained in the vegetable food of the animal, either as such, or as a precursor, which, when the food is digested, is absorbed and acts as a food supply or stimulus for the bacillus: the quantity obviously would not need to be large as it would be constantly replenished.

The recent experiments which will be described in this paper were undertaken with the object of investigating certain cattle foods and determining the presence or absence of a suitable substitute for the essential substance contained in the acid-fast bacilli which we used in our original media; but soon the scope of the investigation was enlarged, and many other vegetable substances were tried. In the experiments, alcoholic extracts of the substances to be tested were used, as it was assumed from the results with B. phlei, that if they contained any essential substance, it would be extracted with alcohol, and if the essential substance were present only in minute quantity it should be possible to obtain it in a much more concentrated condition in the extract. The substances to be tested were extracted in a Soxhlet's apparatus for three hours, and the hot alcoholic extract filtered and evaporated to dryness. Each extract was incorporated in an egg medium which was prepared as follows:

New laid egg (yolk and white)	66 %
0.85 % NaCl in water	30 %
Glycerine (by volume)	4 %

In the preparation of the media the glycerine was first added to the saline, and to this mixture was added the extract. The whole was steamed for half an hour, and the egg then added, after which the egg mixture was distributed in sterile tubes; these were plugged with cotton wool, and sterilised at 61° C for 1 hour on three successive days, the tubes being incubated over night between the second and third heatings. Immediatly after the last heating the tubes were set in slopes in an inspissator at about 85° C. The media were tested with recently isolated strains or Johne's bacillus, two or more tubes being inoculated with one or more strains of the bacillus, and then incubated for at least 4 months at 39° C. In cases where the extract was markedly acid, sufficient NaOH was added to leave the extract slightly acid, and this was done before adding it to the egg, so that the medium when finished was alkaline.

In the first group of experiments various seeds, including nuts and spices, were investigated. It is well known that seeds contain a quantity of reserve food material, in fact, almost everything that is necessary for the vitality of the young plant, and it was thought that if any essential substance were present in a plant it would most likely be found in the seeds. Extracts of the following seeds and spices were accordingly tested:

Generated on 2019-09-15 15:06 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Barley 1a, 2a, 3a	Canary 1a	Grass 1a, 3a
Maize 1a, 2b, c	Millet 1a	Oats 1a, 2a
Rice (polished) 1a	Wheat 1a, 2a	Dairi 1a, 2b, 3a, 4a
Borecole Kale 1a, 2b, c	Cress 1a	Lettuce 1a
Mustard (white) 1a, 2b	Mustard (black) 2b	Rape 1a, 3a
Savoy 1a	Seakale 2b	Turnip 1a
Artichoke 1a	Cardoon 2b	Chicory 1a
Dandelion 1a	Endive 1a	Sunflower 2a
Carrot 1a	Carroway 1a	Chervil 1a
Parsley 1a	Parsnip 1a	Spinach 1a, 2a
Beet 1a	Poppy 1a	Maw 1a
Corn Salad 1a	Asparagus 1a	Linseed 1a, 2b, 3a, 4a, c
Hemp 1a, 3a	Teazel 1a	Nigas 1a
Tiger Nut 2a	Brazil Nut 2b	Crack Nut 2b, c
Sweet Almond 2b	Bitter Almond 2b	Monkey Nut 2b
Cayenne 2b	Chillies 2b, c	Mace 2b, c
Cloves 1b, c	Allspice 2b, c	Black Pepper 2b
Nutmeg 2b, c	Coffee 2b, c	Ginger (dried) 1a
Culinary Pea (the Bruce) 1a, 2a	Maple Pea 2b	Tick Bean 2b
Egyptian Lentil 1a	Broad Bean 2a	Java Bean 2a
Soya Bean 2b	Ricin Bean 2a	Croton Bean 2b
Physostigma Bean 2b	Nux vomica 2b, c	Stramonium 2b
Strophanthus 2a	Staphysagria 2b	Colchicum 2b, c
Orange 2b	Melon 2b	Date 2a
Muscatel 2a	Fig 2b	Rose 1a

1) denotes that the substance was extracted whole
2) „ „ „ „ „ „ after being ground up
3) „ „ „ „ „ soaked in water and fermented before extraction
4) „ „ „ „ „ ground up and then soaked in water and fermented before extraction
a) „ „ 1 % of the alcoholic extract as a whole was tested
b) „ „ the alcoholic extract was divided into that which is insoluble or slightly soluble in cold alcohol and that which is readily soluble in cold alcohol, and that the portion which is readily soluble in cold alcohol was further divided into a part soluble in chloroform (mostly insoluble in water) and a part practically insoluble in chloroform (soluble in water), 1 % of each of these portions being tested in media
c) „ „ only 0.1 % of that portion of the extract which is insoluble in chloroform was incorporated in a medium

Most of the extracts gave negative results, but some growth of Johne's bacillus was obtained with the following:

Linseed, Barley, Wheat, Maize, Oats, Dairi, Culinary Pea, Physostigma Bean, Fig seeds.

With extract of Linseed the growth of Johne's bacillus was generally fairly good; but with the rest the growth was usually poor, and often occurred only over the lumps of extract which remained undissolved, and which no doubt contained more essential substance than the rest of the medium. The results varied considerably with different samples of the same kind of seed, for instance, the extract of oats occasionally gave a good medium, and, on the other hand, linseed sometimes gave a negative result. Possibly the degree of ripeness of the seeds and the soil on which the plants are grown, and even the climatic conditions during ripening, may play some part in determining the suitability of a particular sample of seeds, in the same way that the acid-fast bacilli vary according to the medium on which they are grown etc. The best results were usually obtained with that part of the alcoholic extract which is soluble in chloroform.

Certain Streptothricae and Yeasts were now tested in media; but all gave negative results with Johne's bacillus, except a medium con-

Generated on 2019-09-15 15:06 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

taining an unclassified yeast which was isolated from the intestinal tract of man: on this medium Johne's bacillus gave a definite growth, but it was slow and poor.

In view of the result obtained with a yeast, certain fermented liquids were now tested, these included the following wines: Heller, Chablis, Burgundy, Parsnip. The wines etc. were filtered through filter paper, evaporated to dryness, and from 0.1 to 2.0 % of each residue made up into media as previously described. All the media gave negative results with Johne's bacillus.

Alcoholic extracts were now obtained from certain flowers, barks, and woods, the inner and outer rings of the woods being tested separately. Each wood was cut in shavings on a lathe before being extracted with alcohol, the following were tested: Yew, Arbor vitae, Silver birch, Box, Laburnum, Oak. All the extracts when incorporated into media gave negative results.

Some freshly collected fungi were next investigated; but these, instead of being extracted with absolute alcohol in a Soxhlet's apparatus, were extracted in the cold for 24 hours with methylated spirit, 10 c. c. of spirit being used for every 5 g of fungus. After 24 hours the spirit was poured off, filtered, and evaporated to dryness, some of each extract being made up into a medium. The following fungi were tested:

	Weight of extract used in 36 c. c. of medium
Polystictus versicolor Fr.	0.66
Agaricus campestris L. (possibly, but immature)	2.0
Hypholoma fasciculare Huds.	1.4
Tricholoma personatum Fr. (possibly)	2.3
Coprinus sp.	0.30
Pholiota mutabilis Schaeff.	0.50
Lycoperdon gemmatum Batsch.	0.50
Clitocybe odora Sow.	1.85
Sparassis crispa Fr.	2.15
Russula sp.	0.75
„ sp.	0.67
„ emetica Fr. (almost certainly)	0.61
Cantharellus cibarius Fr.	2.86
„ aurantiacus Fr.	0.17
Amanita muscaria Fr.	1.55
„ rubescens Fr. (probably)	0.73
„ sp.	1.26
Boletus bovinus L.	1.33
„ sp.	1.3
„ sp. covered with the parasitic mould, Sepedonium chrysospermum	1.52
„ sp.	1.0
Laccaria laccata B. et Br. (probably)	0.8 and 0.1
Lactarius sp.	0.40
„ sp.	0.8
„ rufus Scop. (almost certainly)	1.6

I am indebted to the Director of Kew Gardens for naming the fungi; but as they were all first extracted with the spirit and somewhat crushed, it was found impossible in every case to determine with certainty the exact variety. Six species not given in the list were so far broken up as to be indeterminable.

Of 31 species extracted only one gave a definitely positive result; this was the extract of Cantharellus aurantiacus, the media prepared from this extract giving a good growth with cultures of Johne's

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:06 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

bacillus. Media prepared from the extracts of several other species gave doubtful results, i. e. the growth, if any, was extremely small. It will be noted that in many cases the percentage of extract in the medium was considerably higher than in the case of C. aurantiacus, and it is possible that, had the percentage been lower with the rest, certain of the other extracts would have given positive results. Unfortunately, however, no more material was obtainable to test this point, and the season for obtaining fresh fungi was passed when the one positive result was obtained. Poisonous substances from the fungi may have also interfered with the results in some cases.

The following seaweeds, kindly named for me by Professor Oliver, were also tested:

Laminaria digitata	(chloroform soluble portion of alcoholic ext.	$\frac{1}{2}$ %)
" "	(" insoluble " " " "	1 ")
" saccharina	(alcoholic extract	1 ")
Fucus vesiculosus	(" "	$\frac{1}{2}$ % and 1 ")
" serratus	(" "	1 ")
Nitophyllum	(" "	$\frac{1}{4}$ ")
Pelvetia canaliculata	(" "	1 ")
Ceramium	(" "	" ")
Ascophyllum nodosum	(" "	" ")

All were well washed with water, extracted in a Soxhlet's apparatus, and the extract evaporated to dryness and incorporated in the egg medium already mentioned. All the results were negative, i. e. Johne's bacillus failed to grow on the media.

In a final series of experiments a number of fruits, roots etc. were tested, each substance being extracted with absolute alcohol in a Soxhlet's apparatus; the substances were as follows:

Tamarinds 2a	dried Figs including seeds 2b	Dates 2b
Muscatels 2b	Sultanas 2b	dried "Currants" (grapes) 1b, 2b
Banana 2b	Banana skin 2a	Parsnip 2a
Apple 2b	Pear 2a	Swede 2a
Tomato 2b	Potato 2a	Carrot 2b
Bacterial nodules on root of cultinary pea 1a		Orange peel 2a
Human hair 2b	Rat skin and hair 1	Honey and comb 2b

In the table 1 denotes extracted whole
" " " 2 " " after being cut up
" " " a " that the alcoholic extract was used
" " " b " " the alcoholic extract, after being evaporated to dryness, was extracted with chloroform, and the chloroform soluble and chloroform insoluble portions tested separately.

When more than one number or letter is given it indicates that each of the methods was employed.

Usually 1 % of the extract was incorporated in the medium, but the following exceptions in the case of the chloroform soluble portion of the extract may be noted,

Figs $\frac{1}{5}$ % (+ 1 % of chlorof. insol. portion)	Dates $\frac{1}{4}$ %
Muscatels $\frac{1}{2}$ %	Carrot $\frac{1}{3}$ "
Tomato $\frac{1}{6}$ %	Apple $\frac{1}{30}$ "

Media containing the following extracts gave positive results with Johne's bacillus,

Alcoholic extract of tamarinds
Chloroform soluble portion of alcoholic extract of dried "currants" (grapes)
" " " " " " " Figs
" " " " " " " Muscatels

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:06 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

With the extract of tamarinds and muscatels the growth was poor, with that of figs it was fairly good, and with that of the dried currants it was very good. The extracts of carrot, tomato and swede gave doubtful results. It may be noted, that in the case of the currant grape (the small dried grape which is sold by grocers as currants), and in some other cases too, the chloroform soluble portion of the extract did not amount to 1% of the whole alcoholic extract; and, as it is probable that the chloroform soluble portion of an alcoholic extract contains only a small amount of essential substance, the quantity of this substance in the original currant or grape must be extremely minute. In another series of experiments it was shown that the essential substance could often be extracted by means of other solvents, such as Methyl Alcohol, Chloroform, etc.; and this is also true for acid-fast bacilli.

Some of the media which had given good results with sub-cultures of Johne's bacillus were now tested direct with infected animal tissue, the tissue used being the gland of a sheep. The results in this case were the same as when sub-cultures of Johne's bacillus were employed. Thus a medium containing the chloroform soluble portion of an alcoholic extract of currant grape showed definite colonies of Johne's bacillus in 3 or 4 weeks, and in this way it was proved that the positive results obtained with the media were not due to acclimatisation of the laboratory strains.

If we review the experiments it is clear, that certain vegetable tissues contain a substance which will act as a stimulus or food for Johne's bacillus, and that the bacillus will grow on media containing a certain portion of the alcoholic extract obtained from these tissues. The essential substance, when present, is often in very minute quantity, and further, the quantity varies considerably with different samples of the same vegetable tissue. Media prepared from the extracts are usually not nearly so good as media prepared from acid-fast bacilli or their extracts; although, in the case of the currant grape, figs, oats, linseed, and the fungus Cantharellus aurantiacus, good results are sometimes obtained. In the case of animal tissues all attempts to extract an essential substance have given negative results. The chemical constitution of the essential substance contained in the vegetable tissues has not been determined, and this is also the case with the essential substance obtained from acid-fast bacilli; moreover, in no case has the substance been obtained in a pure state. Under the circumstances it is impossible to say how far the substances obtained from different sources are related to each other; it may be that they are identical; but it seems more probable that they are simply allied and belong to a group of substances the essential radicle of which may be the same; on this point, however, there is no evidence, and no experiments have been performed to ascertain the relation of the essential substance to vitamines.

As was pointed out at the beginning of this paper, the experiments described here were undertaken primarily with the object of determining how far the animal's food might be the source of the essential substance, which, it was to be presumed, would still be required by Johne's bacillus when this was in the tissues of the animal. The results obtained certainly indicate that the animal's food may be the source of the essential substance for the bacillus, rather than that any substance is metabolised by the animal itself; but there is no definite proof that this is so. The experimental results also suggest a possible means whereby Johne's bacillus may survive outside the body of

Generated on 2019-09-15 15:06 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

ruminants. It may be noted that C. C. Twort has already shown that the bacillus may infect mice and rabbits, and be passed out in the faeces of these animals. Here then is one means by which the infection may remain in any locality after all infected ruminants have been killed or removed; and if the bacilli contained in the faeces of these animals — ruminants, mice, and rabbits — can obtain their essential substance from certain seeds, such as oats and linseed, or from a fungus such as Cantharellus aurantiacus, then it is quite possible, that given sufficient moisture and warmth, the bacilli will survive and multiply on such substances, and so infect a fresh herd of healthy animals brought on to the farm, especially if this is in a low lying moist district. In this connection it must be remembered that it is quite possible that Johne's bacillus can find sufficient essential substance to survive in other vegetable tissues which do not contain sufficient to allow the bacillus to multiply, and it is probable that amongst the many substances which have not been included in these experiments there are some, at least, from which an essential substance can be extracted as good as those which have been investigated.

In conclusion it may be noted that human and rat lepra bacilli were tested on all the media described in this paper, and it was for these bacilli especially that the extracts of human hair, rat hair and skin, and seaweeds were prepared; all the results, however, were negative.

We wish to thank the University of London for grants from the Henry Dixon Fund which have helped to pay the expenses of this research.

References.

1) Twort, F. W., A Method for Isolating and Growing the Lepra Bacillus of Man. (Proceed. Roy. Soc. B. Vol. 83. 1910.)
2) Twort, F. W. and Ingram, G. L. Y., A Method for Isolating and Cultivating the Mycobacterium enteritidis chronicae pseudotuberculosae bovis Johne, and some Experiments on the Preparation of a diagnostic Vaccine for Pseudotuberculous Enteritis of Bovines. (Proc. Roy. Soc. B. Vol. 84. 1912.)
3) — —, Further Experiments with the Mycobacterium enteritidis chronicae pseudotuberculosae bovis Johne, and with Vaccines prepared from this Micro-organisms. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 67. 1912. H. 3.)
4) — —, Further Researches on Johne's Disease. (Veterin. Record. Sept. 14. 1912.)
5) — —, Johne's Disease in Sheep. (Ibid. April 12. 1913.)
6) — —, A Monograph on Johne's Disease. London (Baillière, Tindall and Cox), 1913.
7) — —, Affection of the bronchial Glands in Johne's Disease. (Veterin. News. June 21. 1913.)
8) Holth, H., Reinzüchtung des Bacillus der spezifischen chronischen Darmentzündung des Rindes (Paratuberkelbacillus). (Zeitschr. f. Infektionskrankh. der Haustiere. Bd. 11. 1912. H. 5.)
9) M'Fadyean, Sheather and Edwards, Johne's Disease. (Journ. of Compar. Pathol. Vol. 25. Pt 3. 1912.)
10) Mellon and M'Ginnis, Johne's Disease. (Journ. of the Departm. of Agricult. for Ireland. Vol. 13. 1913. No. 2.)
11) Meyer, K. F., Personal communication.
12) Twort, C. C., The Agglutination and Complement Fixation Reactions in Animals experimentally inoculated with Johne's Bacillus, with special Reference to the Relation of this Bacillus to other acid-fast Bacilli. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 66. 1912. H. 2/4.)
13) —, Johne's Disease in Rabbits and Mice. (Veterin. News. June 14. 1913.)
14) —, The Rapidity with which Contamination of the Thoracic Cavity and its contained Glands follows Infection of the Peritoneal Cavity. (Lancet. July 26. 1913.)
15) —, Johne's Disease in the small Laboratory Animals. (Veterin. News. January 1914).
16) Twort, C. C. and Craig, T., The Pathogenicity of Johne's Bacillus compared with that of other acid-fast Bacilli for some of the Laboratory Animals. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 68. 1913. H. 5/6.)

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:06 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Nachdruck verboten.

Wechselseitige Mutation von Pneumokokken und Streptokokken[1]).

[Aus dem Memorial-Institut für Infektionskrankheiten, Chicago, Ill., U. S. A.]

Von **E. C. Rosenow.**

Mit 2 Tafeln.

Gewisse Verschiedenheiten mannigfacher Art im biologischen Verhalten verschiedener Streptococcus-Stämme sind schon oft beschrieben worden. Manche Forscher auf diesem Gebiete glauben, daß diese verschiedenen Typen experimentell nach Willkür ineinander übergeführt werden können. Niemand hat jedoch bis jetzt, soweit ich weiß, typische hämolytische Streptokokken in typische Pneumokokken verwandelt; der strikte Beweis einer solchen Transformation stand noch aus. In allen derartigen Versuchen fehlte ferner das Postulat der direkten Abstammungslinie, nämlich daß der untersuchte Stamm von einem einzigen Mikroorganismus ausgehend gezüchtet wurde, mit der einen Ausnahme des Falles von willkürlicher Transformation des Streptococcus viridans in den Pneumococcus (1).

Ich möchte hier kurz über die Ergebnisse meiner langwierigen Untersuchungen über diese und verwandte Fragen berichten. Der Beweis der kompletten Transformation des Streptococcus haemolyticus in den Diplococcus lanceolatus (Pneumococcus) stützt sich nicht allein auf morphologische Kriterien, die Anwesenheit oder das Fehlen der Kapsel, auf das bekannte verschiedene Verhalten im Gärungsvermögen und auf spezielle Unterschiede in der Kultur, der Löslichkeit in Galle und Salzlösung, Marmoreks Beweis, nicht nur auf mehr oder weniger charakteristische pathologische Wirkungen, sondern auch auf Untersuchungen über Agglutinine (2).

Die Stämme des Streptococcus haemolyticus, deren ich mich bediente, stammten von Fällen von Scharlach, Erysipel, akuter Angina tonsillaris, puerperaler Septikämie, Otitis media; einige wurden auch aus Milch gezüchtet.

Die Stämme des Pneumococcus wurden aus dem Blute von Patienten mit lobärer Pneumonie gezüchtet. Unter diesen Pneumococcus-Stämmen habe ich einen Stamm, der seit 10 Jahren ununterbrochen als Pneumococcus gewachsen ist und weitergezüchtet wurde, und einen anderen, der ursprünglich von Neufeld isoliert wurde und von seiten Coles und dessen Mitarbeitern studiert worden ist. Die Stämme vom Streptococcus viridans erhielt ich aus dem Blute und Pharynx von Fällen mit chronischer Endocarditis lenta. Die Stämme vom Streptococcus „rheumaticus“ wurden aus der Punktionsflüssigkeit von Gelenken von Fällen von akutem Gelenkrheumatismus gezüchtet. Alle diese Blutkulturen wurden wenigstens zweimal auf Blutagarplatten ausgesät und von einzelnen Kolonieen wurden Subkulturen gemacht. 3 verschiedene Kulturen vom Streptococcus haemolyticus, 6 Kulturen vom Streptococcus viridans, 3 Kulturen vom Pneumococcus und 2 Kulturen vom Streptococcus

1) Die Einzelheiten dieser Arbeit sind im Journal f. Infektionskrankheiten für Januar 1914 herausgegeben.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:06 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

mucosus waren „Rassen reiner Linie“ (“pure line” cultures), d. h. von einem einzigen Organismus ausgehend gezüchtet (Barber-Methode).

Menschliches Blut mit Agar (Blutagar) gemischt bewährte sich als das beste Kulturmedium, um das verschiedene biologische Verhalten aufzudecken. Wenn z. B. ein ursprünglich hämolytischer Stamm die Fähigkeit, zu hämolysieren, verloren hat und grünen Farbstoff zu produzieren begann, so änderte sich auch das Gärungsvermögen zur selben Zeit.

Eine große Anzahl von Versuchsanordnungen wurde ausprobiert, um Mutation zu erzielen. Als beste unter diesen ergab sich: 1) Symbiose mit anderen Bakterien, namentlich B. subtilis, auf Blutagarplatten, 2) Kultur unter verschiedener Sauerstoffspannung und 3) in verschiedener Salzkonzentration.

Es ist nötig, um diese Stämme dahin zu bringen, neue Eigenschaften zu erwerben, typische junge Kulturen unter Lebensbedingungen zu bringen, welche für das Wachstum und die Fortpflanzung ungünstig sind. Dies scheint neue und latente Energieen zur Entwickelung zu bringen, die früher nicht zu beobachten waren. Die Fähigkeit der Mutation steht in gewissem Zusammenhang mit der Virulenz, und zwar so, daß nicht-virulente Mikroorganismen leichter Mutation eingehen als virulente Kulturen. Diese letzteren sterben nämlich zu früh ab, zu einer Zeit, wo derartige biologische Veränderungen noch nicht Platz greifen konnten. Diese Veränderungen schienen in der Tat echte Mutation zu sein; die neu erworbenen Eigenschaften werden mit Zähigkeit festgehalten, bis die Kulturen wieder unter neue und spezielle Lebensbedingungen gebracht werden. Stämme, welche einmal Mutation gezeigt haben, brauchen jedoch nicht immer wieder diese Eigenschaft zu zeigen, auch wenn sie unter dieselben Bedingungen gebracht werden, unter welchen sie früher Mutation gezeigt hatten. Es scheint, daß eine „Prämutationsphase“ in dieser Gruppe von Bakterien notwendig ist, ähnlich dem Verhalten des B. mucosus, auf welches Toenniessen (3) hingewiesen hat.

Die Mutationen, welche ich in vitro beobachtet habe, können als „retrogressive“ bezeichnet werden, während die im Tierkörper beobachteten als „progressive“ zu kennzeichnen sind. Virulenz, Gärungsvermögen, Größe, Kapselbildung und schnelles und üppiges Wachstum nehmen im Reagensglase ab, während sie im Tierkörper eine Steigerung erfahren.

Die Ergebnisse meiner Arbeit sprechen für die folgende Reihenfolge, in welcher die verschiedenen Typen dieser Gruppe zueinander stehen: Streptococcus haemolyticus ⇄ Streptococcus „rheumaticus“ ⇄ Streptococcus viridans ⇄ Pneumococcus ⇄ Streptococcus mucosus. Diese Namen sollen vorläufig beibehalten werden, da die verschiedenen Stämme, welche wir so bezeichnen, gewisse, ziemlich bestimmte, pathogene Eigenschaften haben.

Um einen typischen Streptococcus haemolyticus in einen Pneumococcus zu verwandeln, ist es nötig, ihn erst in einen Streptococcus viridans überzuführen, z. B. durch Wachstum in Symbiose mit B. subtilis auf Blutagarplatten oder unter hoher Sauerstoffspannung. Nach einer genügenden Anzahl (6—28) von Tierpassagen erwerben solche Stämme alle charakteristischen Eigenschaften von typischen Pneumokokken, gerade so, wie ich dies schon früher für Streptococcus viridans-Stämme gezeigt habe, die von Fällen von Endocarditis lenta gezüchtet worden waren.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:06 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Werden Pneumokokken und hämolytische Streptokokken häufig überpflanzt, oder werden sie unter einer relativ niedrigen Sauerstoffspannung gehalten, so ändert sich ihr kulturelles und anderes biologisches Verhalten nur langsam oder gar nicht. Werden sie jedoch unter ungünstige Lebensbedingungen gebracht, wie z. B. unter relativ hohe Sauerstoffspannung, dann erwerben sie neue Eigenschaften; der Pneumococcus gewinnt die Fähigkeit, Blut zu hämolysieren.

Die Tatsache, daß unter der Wirkung vermehrter Sauerstoffspannung der Streptococcus haemolyticus in den Streptococcus viridans übergeht, und ferner, daß der Streptococcus haemolyticus unter relativ anaëroben Bedingungen die Fähigkeit der Hämolyse nicht nur beibehält, sondern oft sogar in einem höheren Grade zeigt als vorher, scheint zu erklären, warum hämolytische Streptokokken mehr in den Krypten der Tonsillen wuchern, während der Streptococcus viridans auf der Oberfläche der Tonsillen überwiegt.

21 verschiedene Stämme vom typischen Streptococcus haemolyticus konnten auf einem oder dem anderen Wege in den Streptococcus viridans übergeführt werden, 3 Stämme vom Streptococcus viridans in typische Pneumokokken, 1 von ihnen auch gleichzeitig in den Streptococcus mucosus; 2 von diesen Pneumococcus-Stämmen und der Streptococcus mucosus wurden in typische hämolytische Streptokokken wieder zurückverwandelt. Einer der Stämme entsprach in seinen Eigenschaften in einer bestimmten Periode dem Streptococcus „rheumaticus". 17 Stämme vom Streptococcus viridans, hauptsächlich aus dem Blute von Patienten mit Endocarditis lenta gezüchtet, wurden in typische Pneumokokken übergeführt, 2 von ihnen gleichzeitig auch in den Streptococcus mucosus. 10 andere erwerben jetzt die morphologischen und kulturellen Eigenschaften von hämolytischen Streptokokken. Das Verhalten im Tierexperiment und gegenüber spezifischem Immunserum von zweien dieser Stämme bewies, daß wir es mit dem echten Streptococcus haemolyticus zu tun hatten. Ein Stamm vom Streptococcus viridans wurde in einen hämolytischen Streptococcus übergeführt, dann wieder in einen Streptococcus viridans verwandelt und aus diesem in einen Pneumococcus.

11 Stämme, die als Pneumokokken aus Sputum, Blut und Lunge von Pneumoniefällen isoliert worden waren, wurden in hämolytische Streptokokken übergeführt: 7 von diesen Pneumokokkenstämmen zeigten zuerst die charakteristischen Eigenschaften des Streptococcus viridans, 3 von den letzteren erwarben die Eigenschaften vom Streptococcus „rheumaticus"; 2 wurden in hämolytische Streptokokken verwandelt, in Streptococcus viridans und wieder zurück in Pneumokokken. 5 Stämme vom Streptococcus mucosus nahmen die kulturellen Eigenschaften hämolytischer Streptokokken an; 2 von diesen wurden in den Streptococcus viridans verwandelt.

5 Stämme Streptokokken von Rheumatismus erwarben die charakteristischen Eigenschaften hämolytischer Streptokokken, 2 die des Streptococcus viridans, 4 von ihnen wurden in Pneumokokken übergeführt.

Literatur.

1) Rosenow, Journ. Infect. Dis. Vol. 7. 1910. p. 411.
2) Bezüglich der Einzelheiten der Experimente verweise ich auf die Januar-Nummer des Journal of Infectious Diseases. Vol. 13. 1913.
3) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 69. 1913. p. 391.
4) Journ. Infect. Dis. Vol. 9. 1911. p. 1.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:06 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Generated on 2019-09-15 15:06 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Digitized by Google

Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

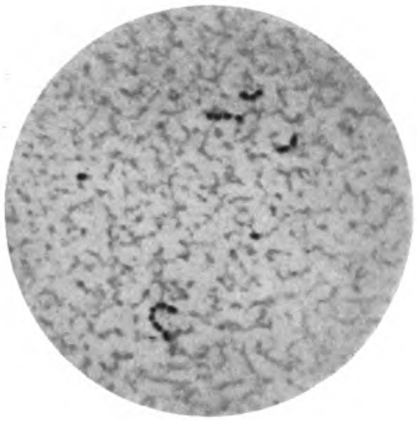


Fig. 1.

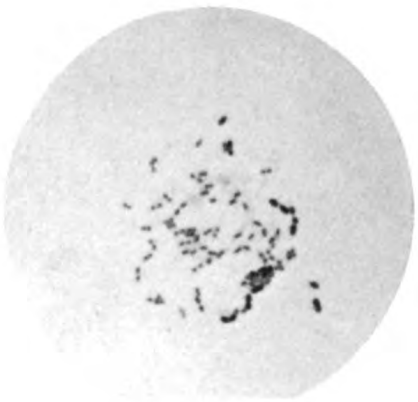


Fig. 2.

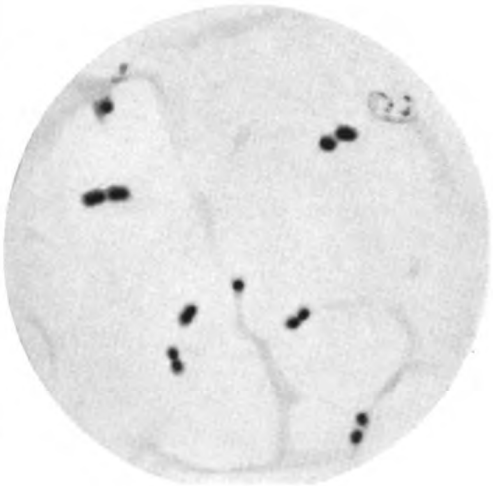


Fig. 3.



Fig. 4.

Verlag von **Gustav Fischer** in **Jena.**

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:06 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Generated on 2019-09-15 15:06 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Digitized by Google

Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

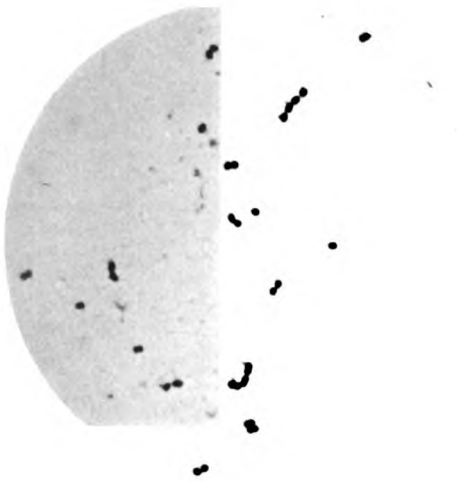


Fig. 5.



Fig. 6.



Fig. 7.

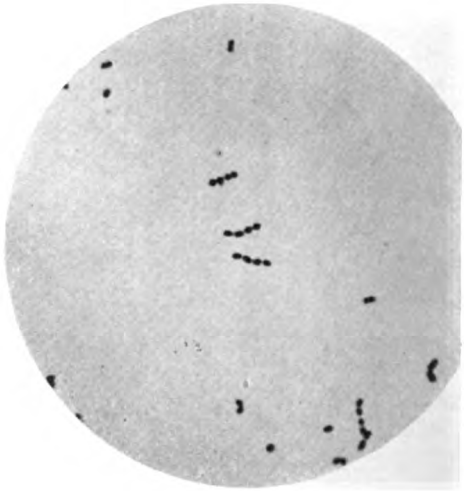


Fig. 8.

Verlag von **Gustav Fischer** in **Jena.**

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:06 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Erklärung der Tafeln.

Die Vergrößerung der Mikrophotographieen beträgt 1200 Diamet. Die Kapselfärbung ist die vom Autor beschriebene (4). Die anscheinend große Form der Pneumokokken ist zum größten Teile durch die Fixation und den Grad der Entfärbung verursacht. Kapselfreie Organismen oder solche, welche die Kapselfärbung nicht annehmen, werden während der Fixation mit Gerbsäure zusammengezogen. Je größer die Kapsel, desto größer erscheint der Organismus. Diese Tatsache erklärt die Verschiedenheit der Größe und die anscheinend größere Form der Pneumokokken in den Figuren 3, 6 und 7.

Fig. 1. Stamm 595, als hämolytischer Streptococcus isoliert von einem Falle von Scharlach. Ausstrich von einer 24-stündigen Kultur in Ascites-Dextrose-Bouillon; Gramsche Färbung.

Fig. 2. Stamm 595, als Streptococcus viridans; Ausstrich von einer 24-stündigen Kultur in Ascites-Dextrose-Bouillon; Gramsche Färbung.

Fig. 3. Stamm 595, als Pneumococcus. Ausstrich von einer 24-stündigen Ascites-Dextrose-Bouillon. Kapselfärbung.

Fig. 4. Streptococcus von einem Falle von Rheumatismus, lange Ketten und grünen Farbstoff bildend. Typische rheumatische Arthritis, Endocarditis und Pericarditis bei Kaninchen.

Ausstrich aus dem Sediment einer 24-stündigen Ascites-Dextrose-Bouillonkultur. Kapselfärbung.

Fig. 5. Stämme vom Streptococcus „rheumaticus", welcher geringe Hämolyse auf Blutagar und Myositis im Tierexperiment zeigte. Ausstrich von einer Blutagarstrichkultur. Kapselfärbung.

Fig. 6. Derselbe Stamm wie in Fig. 5, aber nach seiner Umwandlung in einen Pneumococcus. Ausstrich von einer Blutagarstrichkultur.

Fig. 7. Ein hochvirulenter Pneumococcus-Stamm (Coles Group I), ursprünglich von Neufeld isoliert und mir gütigst überlassen von Rufus Cole. Ausstrich von der Oberfläche und dem Kondenswasser einer Blutagarstrichkultur. Kapselfärbung.

Fig. 8. Derselbe Stamm wie in Fig. 7 nach seiner Umwandlung in einen hämolytischen Streptococcus. Ausstrich von der Oberfläche und dem Kondenswasser einer Blutagarstrichkultur. Kapselfärbung.

Nachdruck verboten.

Die Vererbung der Wut.

Dritte Mitteilung.

[Aus dem Institute für allgemeine Pathologie und Therapie der Kgl. ungar. Franz-Josef-Universität in Kolozsvár. Direktor: Dr. J. v. Löte, o. ö. Professor.]

Von Privatdozenten und Adjunkten Dr. **Daniel Konrádi.**

In meiner ersten[1]) und zweiten[2]) Mitteilung konnte ich nachweisen, daß das Wutvirus von der Mutter auf den Fötus übergeht. In beiden wurde die diesbezügliche Literatur eingehend besprochen, der Uebergangsmodus und die inzwischen erlittene Veränderung des Virus erörtert. Daß ich mich jetzt auf Grund meiner neueren Untersuchungen und Beobachtungen schon zum dritten Male mit dieser Frage beschäftige, findet seinen Grund darin, daß in der seit 1908 erschienenen diesbezüglichen Literatur drei widersprechende Mitteilungen veröffentlicht wurden, deren zwei zwar (Dammann und Hasenkamp, Miessner, Kliem und Kapfberger) zum positiven, die andere (Repetto) aber zum negativen Resultate führte; in der Beziehung stimmen sie doch miteinander ein, daß sie leicht über diese Frage hinweggleiten, ohne dieselbe der ihr

1) Dieses Centralbl. Abt. I. Orig. Bd. 38. 1905. p. 60.
2) Ebenda. Bd. 47. 1908. p. 203.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:06 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

gebührenden Beachtung zu würdigen; ja sogar nimmt sich keiner der genannten Autoren die Mühe, wenigstens diejenige Literatur zu berücksichtigen, welche in demselben Fachblatte erschien, in dem ihre Mitteilung veröffentlicht wurde. Hätte dies Repetto nicht außer acht gelassen, dann wäre er aus seinen, in einer anderen Weise unternommenen Untersuchungen nicht zu diesem Schlusse gekommen.

Lassen wir jetzt diese Untersuchungen folgen, und zwar so, wie dieselben durch Repetto unternommen wurden:

In einem Schafstalle wurden 24 Schafe von einem wutkranken Hunde gebissen. 14 von diesen starben an der Wut nach ungefähr 25 Tagen. Aus einem trächtigen Schafe nahm Repetto folgende Versuche vor: Im Ammonshorn des Muttertieres wurden zahlreiche Negrische Körperchen gefunden, und zwei mit diesem Gehirnteile subkutan infizierte weiße Ratten starben nach 14 Tagen an der Tollwut. Im Ammonshorne des Fötus hat Repetto keine Negrischen Körperchen gefunden, und 2 Ratten, die subkutan mit einem Teile dieses Ammonshornes und dem verlängerten Mark geimpft worden waren, blieben am Leben.

Es wurden außerdem mit je 1 ccm Milch, welche aus dem Euter des Schafes gepreßt worden war, 5 weiße Mäuse subkutan infiziert. Diese blieben auch am Leben. Auch diejenigen 5 weißen Mäuse blieben am Leben, welche 1 ccm Amniosflüssigkeit subkutan bekamen.

„Diese Untersuchungen — sagt Repetto — ergaben:

1) Daß das Wutvirus nicht von der Mutter auf den Fötus übergeht, wie dies bereits Pasteur, Celli, L. de Blasi und Zagari bewiesen hatten, während Peroncito, Carita und Loir das Gegenteil behauptet hatten.

2) Daß die Negrischen Körperchen nicht durch das placentäre Filter dringen können und folglich sich nicht im Fötus vorfinden.

3) Daß die Amniosflüssigkeit kein Wutvirus enthält.

4) Daß die Milch kein Wutvirus enthält, wie bereits Pasteur, Celli, L. de Blasi und Zagari nachgewiesen hatten."

Betrachten wir nun diese Beobachtungen und Untersuchungen ein wenig eingehender, dann wird es sofort auffallen, daß Repetto in seiner Mitteilung versäumt hat, anzugeben, wie lange die aus dem Fötus infizierten Tiere beobachtet wurden. Wahrscheinlich nur so lange, wie die aus dem Muttertiere Infizierten. Von welch' großer Bedeutung aber es ist, in solchen Fällen die Beobachtungsdauer zu verlängern, konnte ich schon in meiner ersten Mitteilung nachweisen und in der zweiten noch ausdrücklicher betonen, was seither auch durch Galli-Valerio, Remlinger und Josef Koch, auf meine Untersuchungen hinweisend, für notwendig gehalten wird. Eine längere Beobachtung der aus den Föten infizierten Tiere ist deshalb notwendig, weil das Wutvirus sich während des placentaren Ueberganges abschwächt, weshalb die geimpften Tiere immer später und später an Wut eingehen. Besonders wichtig ist die längere Beobachtung in denjenigen Fällen, in welchen die Infektion subkutan geschah, wie in den Untersuchungen von Repetto. Uebrigens kann diese Inokulationsmethode nicht für eine ganz sichere gehalten werden, und aus diesem Grunde wäre es sehr ratsam gewesen, wenn Repetto zur Entscheidung einer solchen wichtigen und in der Literatur noch nicht ganz entschiedenen Frage die subdurale Methode gebraucht hätte, da diese die sicherste ist und deshalb in all' solchen Fällen, in denen von einer

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:06 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Beurteilung eines solchen Virus die Rede ist, welches keine normale Virulenz besitzt, die souveräne obligatorische Impfmethode sein muß. Es ist uns zwar allen bekannt, zu welchen Resultaten Fermi mit seinem Virus bei Mäusen nach subkutaner und endorektaler Infektion gelangte, nun war das aber ein Virus von sehr großer Virulenz. Wir wissen aber auch, daß andere Forscher, u. a. Galli-Valerio, Remlinger, Schindler, in ihren Experimenten die Resultate Fermis nicht bestätigen konnten.

Wir unternahmen auch einige Untersuchungen an Mäusen, um zu sehen, ob dieses Tier zur Lyssaforschung wirklich so geeignet sei. Am 30. Dezember 1912 wurden 3 weiße Mäuse subkutan infiziert mit einem Straßenvirus, welches Meerschweinchen und Kaninchen nach subduraler Infektion binnen 17 resp. 19 Tagen tötete. Von diesen bekam nur eine Maus die Wut, und zwar nach 22 Tagen; die zweite erlag nach 5 Tagen, die dritte nach 8 Monaten einer anderen Infektion. Am 17. Januar 1913 wurden abermals 4 Mäuse subkutan infiziert mit einem Virus gleicher Virulenz. Von diesen bekamen nur 2 die Wut, und auch diese erst nach 77 resp. 88 Tagen, die 3. wurde durch die anderen getötet, die 4. erlag nach 6 Monaten einer fremden Infektion.

Diese Angaben sind zu wenig, um ein Urteil bilden zu können, aber so viel kann man dennoch sagen, daß weder das Tier, noch die Methode zur Lyssaforschung geeignet sind.

Wenn wir nun jetzt alle diese Umstände in Betracht ziehen, so können wir sagen, daß die Untersuchungen von Repetto bei der Beurteilung dieser Frage nicht benutzt werden können; sie beweisen gar nichts, und es ist schade, daß Repetto eine so seltene und wertvolle Gelegenheit nicht in richtiger Weise ausnutzen konnte.

Ueber eine 2. diesbezügliche Beobachtung berichten Dammann und Hasenkamp. In ihrem Falle warf ein mit fixem Virus geimpftes Kaninchen, als sich die ersten Zeichen der Krankheit zeigten, 3 Junge, welche aber am 3. Tage erlagen, trotzdem alles versucht wurde, um sie am Leben zu erhalten. Im Gehirn wurden keine Negrischen Körperchen gefunden, aber mit dem Gehirn und Rückenmark der Jungen gelang es, bei intramuskulärer Injektion die Wut zu erzeugen, welche auch durch Nachweis Negrischer Körperchen diagnostiziert wurde. Aus den angegebenen Versuchen geht hervor, daß eine intrauterine Uebertragung der Wut möglich ist.

Auch hier wird diese Frage nicht in der ihr gebührenden Weise gewürdigt, sondern einfach als „möglich“ dargestellt.

Die 3. Beobachtung stammt von Miessner, Kliem und Kapfberger. „Ein mit Virus fixe infiziertes und nach 10 Tagen typisch an Tollwuterscheinungen zugrunde gegangenes Schaf zeigte sich bei der Zerlegung als hochtragend. Der aus den vollständig unveränderten Eihüllen genommene 45 cm lange, behaarte, in normaler Lage und Stellung befindliche Embryo erwies sich als ganz intakt. Die Sektion des Embryos ergab außer einer geringgradigen Leberanschwellung nur eine starke Injektion der Gefäße der Dura und Pia mater. Es wurde aus dem Gehirn des Embryo das Ammonshorn herauspräpariert, dasselbe mit physiologischer Kochsalzlösung zu einer milchigen Emulsion verrieben und davon 2 Kaninchen je 0,2 ccm unter die Dura gespritzt. Die beiden Kaninchen erkrankten nach 9 Tagen an für Tollwut typischen Lähmungserscheinungen und gingen daran an weiteren 2 Tagen zugrunde.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:06 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Das von diesen Kaninchen weitergeimpfte Material erzeugte ebenfalls Tollwut. Ein anderes ebenfalls mit Virus fixe infiziertes und an Tollwut zugrunde gegangenes Schaf hatte einen noch unbehaarten, 27 cm langen Embryo. In diesem Falle erwies sich das Gehirn als nicht infektiös."

Aber nicht nur in den erwähnten drei Mitteilungen wird diese Frage so oberflächlich behandelt und die neuere Literatur außer Acht gelassen, sondern auch in der 2. Auflage des großen Sammelwerkes von Kolle und Wassermann, in welchem ja jedes Kapitel monographisch bearbeitet wird. So erwähnt z. B. das von Wassermann und Keysser redigierte VI. Kapitel des I. Bandes: „Erbliche Uebertragung von Infektionskrankheiten" auf p. 662 auch in dieser Auflage über die Vererbung der Lyssa nur so viel, wie in der 1. Auflage, obwohl diese Frage seit Erscheinen der 1. Aufl. 1903 ziemliche Fortschritte machte, wie ich dies in einem an Herrn Prof. Wassermann gleich nach Erscheinen dieses Kapitels 1912 gesandten Briefe auseinandersetzte.

Nun gehe ich zu meinen neueren Untersuchungen über.

Erste Serie.

Am 20. Mai 1909 erkrankte im Pasteur-Institute zu Budapest ein Kind am 15. Tage nach der Infektion im Verlaufe der Schutzimpfungen unter den typischen Symptomen der Wut und ging nach 2 Tagen, am 22. Mai, daran zugrunde. Von diesem Virus bekamen wir ein kleines Stückchen zu Versuckszwecken. Aus unbekannten Gründen gelangte das in Karbolglyzerin gesandte Virus erst am 28. Mai, d. h. 6 Tage nach dem Tode des Kindes in unsere Hände. Aus diesem Virus wurden 2 Meerschweinchen intramuskulär, ein Kaninchen subdural infiziert. Die Meerschweinchen gingen nach 23 resp. 26 Tagen an reiner Wut zugrunde; das Kaninchen zeigte am 12. und 13. Tage nach der Infektion eine geringe Temperaturerhöhung, wurde dann wieder fieberfrei; am 34. Tage hatte es abermals Fieber, später verhielt sich das Tier wieder normal, bis es schließlich nach 13 Monaten an reiner Wut zugrunde ging. Dieses Kaninchen warf am 35. Tage nach der Infektion drei reife Jungen, die aber nach 4 Tagen eingingen, obwohl alles versucht wurde, um sie am Leben zu erhalten. Das Gehirn der Jungen war ziemlich hyperämisch, Negrische Körperchen konnten aber nicht nachgewiesen werden. Es wurden aber aus allen dreien subdurale Impfungen in Kaninchen und Meerschweinchen gemacht.

Das aus dem ersten Jungen infizierte Meerschweinchen wurde am 23. Tage wutkrank und ging nach einer Krankheitsdauer von 5 Tagen daran zugrunde; das Kaninchen blieb am Leben und zeigte während einer 14 Monate langen Beobachtungsdauer gar keine Symptome.

Das aus dem zweiten Jungen infizierte Meerschweinchen wurde an demselben Tage wutkrank wie das vorige und ging ebenfalls nach einer 5-tägigen Krankheitsdauer daran zugrunde, das Kaninchen erlag aber an einer fremden Infektion (Pleuropneumonia), und zwar 6 Monate nach der Impfung.

Das aus dem dritten Jungen infizierte Meerschweinchen wurde ebenfalls am 23. Tage wutkrank, das Stadium morbi dauerte aber nur 3 Tage lang. Das Kaninchen wurde auch wutkrank, aber erst nach einer sehr langen Inkubation, und ging unter den typischen Symptomen der paralytischen Wut am 725. Tage zugrunde. In den aus dessen Ammonshorn gefärbten Präparaten fanden wir sehr viele Negrische Körperchen.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:06 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Um zu sehen, was für eine Veränderung das Lyssavirus während der langen Krankheitsdauer erlitten hat, wurden aus einem Meerschweinchen, bei welchem das Stadium morbi 5 Tage lang dauerte, ein Meerschweinchen und ein Kaninchen subdural infiziert. Das Meerschweinchen erlag auch jetzt am 28. Tage, nur mit dem Unterschiede, daß das Stadium morbi nicht 5 Tage, sondern 24 Stunden lang dauerte; das Kaninchen ging am 539. Tage an reiner Wut ein, ein Beweis, daß die Virulenz des Virus nicht verstärkt wurde, sondern — wie dies in meinen früheren Mitteilungen schon nachgewiesen wurde — abgeschwächt blieb.

Diese Untersuchungen beweisen also, daß in den Jungen, welche am 35. Tage nach der Infektion und beinahe 1 Jahr vor dem Tode der Mutter geboren wurden, das Lyssavirus vorhanden war.

Aus diesen Beobachtungen ist noch zu ersehen, wie stark die Virulenz des Lyssavirus während seines 6-tägigen Aufbewahrens in Karbol-Glyzerin abnimmt.

Zweite Serie.

Am 8. Juni 1911 wurden zwei Meerschweinchen subdural infiziert mit einem Lyssavirus, welches den Froschkörper passierend in Meerschweinchen bis zur IX. Generation weitergeimpft wurde. Das eine Meerschweinchen warf am 4. Sept. drei reife Junge, deren Vater das mit dem Muttertier zu gleicher Zeit mit demselben Virus infizierte Männchen war. Die Mutter erlag erst am 1. Dez., d. h. nach 174 Tagen, nach einer Krankheitsdauer von 24 Stunden an der Wut. Daß wirklich Lyssa die Todesursache war, bewies nicht nur der Umstand, daß das zu gleicher Zeit infizierte Männchen an demselben Tage an Wut einging und daß wir Negrische Körperchen nachweisen konnten, sondern besonders das, daß die aus dem Muttertier weitergeimpften Meerschweinchen am 23. resp. 27. Tage an reiner Wut zugrunde gingen und die zur Erhaltung dieser Serie weitergeimpften Generationen immer typische Wut zeigten.

Es ist aber die Inkubation der Mutter und des Vaters in diesem Falle auffällig lang, denn sie dauerte — wie wir sahen — 174 Tage lang. Es ist dies um so auffälliger, weil das vorhergehende Meerschweinchen, aus welchem diese zwei infiziert wurden, nach 38 Tagen einging. Wir können die Ursache dieses Umstandes nicht anders erklären, als daß beide Tiere starke, 700—800 g schwere Meerschweinchen waren, welche längere Zeit mit dem Virus kämpfen konnten.

Sobald diese Jungen sich derart entwickelten, daß wir sie künstlich ernähren konnten, wurden sie entwöhnt, denn wir befürchteten, daß im Falle des Ausbruches der Krankheit der Eltern die Jungen infiziert würden. Aus diesem Grunde wurden sie unter strengster Aufsicht in einem reinen Käfig an einem separaten Orte gehalten, wo sie sich ganz schön entwickelten.

Das erste zeigte am 20. Nov. ein Körpergewicht von 200 g. Am 26. Nov., d. h. im Alter von 84 Tagen, wurde es wutkrank und ging unter den typischen Symptomen der Wut nach einer Krankheitsdauer von 3 Tagen zugrunde. In gefärbten Präparaten sahen wir sehr viele Negrische Körperchen. Wir begnügten uns aber nicht mit diesem, sonst ganz sicheren diagnostischen Befunde, sondern impften aus seinem verlängerten Marke ein Meerschweinchen und ein Kaninchen subdural. Das Meerschweinchen bekam die Wut und ging daran nach 24 Tagen

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:06 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

ein, das Kaninchen aber erst nach 215 Tagen mit einer Krankheitsdauer von 3 Tagen.

Zweites Hündchen. Körpergewicht am 20. Nov. ebenfalls 200 g. Am 2. Dez., d. h. im Alter von 90 Tagen, erkrankte es ebenfalls unter den typischen Wutsymptomen und ging nach einer 3-tägigen Krankheitsdauer daran zugrunde. Negrische Körperchen wurden auch hier gefunden. Das aus demselben subdural infizierte Meerschweinchen erlag nach 20, das Kaninchen nach 159 Tagen nach einer Krankheitsdauer von 2 resp. 4 Tagen unter den typischen Erscheinungen der Wut.

Drittes Hündchen. Körpergewicht am 20. Nov. 200 g. Am 3. Dez., d. h. im Alter von 91 Tagen, zeigt es typische Wutsymptome, unter welchen es binnen 2 Tagen zugrunde ging. Befund: Negrische Körperchen. Subdurale Impfungen. Das Meerschweinchen ging unter den typischen Wutsymptomen nach 21, das Kaninchen nach 161 Tagen ein, und zwar nach einer Krankheitsdauer von 3 resp. 4 Tagen.

Wenn wir die Angaben über diese drei Hündchen eingehender zergliedern, so fallen mehrere Umstände auf, die einer genaueren Besprechung bedürfen. Der erste Umstand ist die Geburt der Jungen. Sie wurden am 88. Tage der Inkubation, 86 Tage vor Ausbruch der Wut des Muttertieres, geboren. Und in diesen Jungen war das Wutvirus vorhanden, was nicht nur der Ausbruch der Wut und das Vorhandensein der Negrischen Körperchen bewiesen, sondern besonders der Umstand, daß die aus ihnen weitergeimpften Tiere den charakteristischen Krankheitsverlauf darboten. Uns war zwar dieser Umstand nicht auffallend, da ich in meiner zweiten diesbezüglichen Mitteilung einen ähnlichen Fall beschrieb, wo wir bei einem Kaninchen die Beobachtung machten, daß zwei am 18. Tage nach der Infektion, 9 Tage vor dem ersten Fieberanfalle, lebendig geborene Junge nach ihrem 24 Stunden später eingetretenen Tode das Lyssavirus enthielten. Bei jenem Kaninchen äußerten sich die übrigen charakteristischen Symptome der Wutkrankheit noch später, als bei dem Meerschweinchen, um welches es sich hier handelt, und der Tod erfolgte erst 487 Tage nach der Geburt der beiden Jungen. Es zirkuliert also das Wutvirus schon so lange Zeit vor dem Tode im Blute des Muttertieres, und so gelangt es durch die Placenta auch in die Frucht[1]). Diese Frage will ich hier nicht von neuem detaillieren, sondern berufe mich — um Wiederholungen zu vermeiden — einfach auf meine zweite diesbezügliche Abhandlung, wo ich diese Verhältnisse auf Grund natürlicher und experimenteller Erfahrungen ausführlich besprochen habe.

Der zweite, noch auffallendere Faktor besteht in dem Umstande, daß diese Jungen sehr lange Zeit gelebt haben, da dieselben — wie wir oben sahen — im Alter von 84, 90 resp. 91 Tagen an Tollwut erkrankten. Es könnte jemand sagen, daß dies keine angeborene Wut war, sondern eine erst nach der Geburt durch Ansteckung entstandene, um so eher, da vor mir noch niemand Gelegenheit hatte, in so lange am Leben gebliebenen Nachkömmlingen das Wutvirus nachzuweisen. Ich aber betrachte diese Wut als eine angeborene, da — wie oben erwähnt wurde — mit weitgehendster Umschau, Separation, Aufbewahren an einem streng rein gehaltenen Orte, wo früher niemals

1) Anmerkung bei der Korrektur: Auch Jos. Koch fand schon am 2. Tage nach der Infektion Gefäßveränderungen in der grauen Substanz; ein Beweis vom Virusgehalt des Blutes im Anfangsstadium.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:06 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

ein wutkrankes Tier war, gesorgt wurde, um eine eventuelle nachträgliche Infektion zu verhindern. Daß es sich hier nur um eine angeborene Wut handeln kann, läßt sich ferner auch dadurch beweisen, daß diese Jungen sozusagen auf einmal und nach einer längeren Inkubation erkrankten und daß auch das Stadium morbi länger dauerte, als dies bei so jungen Tieren der Fall zu sein pflegt, wie ich dies in meiner vorhergehenden Mitteilung auseinandersetzte, und was auch aus einer diesbezüglichen Abhandlung von Remlinger bekannt ist, daß nämlich die Krankheitsdauer bei ganz jungen Hündchen sehr kurz ist. Für diese Tatsache spricht aber noch der Umstand, daß die aus diesen Hündchen weitergeimpften Meerschweinchen und besonders die Kaninchen viel später, nach einer längeren Inkubation an Tollwut erkrankten, als dies sonst geschieht, wenn man aus solchen Tieren weiterimpft, die an einer durch äußere Infektion entstandenen Wut erlagen. Dies aber stimmt mit jener, in meinen früheren Untersuchungsserien gemachten Erfahrung überein, wo ich nachweisen konnte, daß die alleinige Ursache dieses Verhaltens in der Abschwächung des Virus zu suchen ist.

Diese Erfahrung bildet schließlich einen Beitrag zu der im praktischen Leben so wichtigen Frage, wie viele Tage vorher das Wutvirus im Blute zirkuliert resp. wie viele Tage früher ein Tier, z. B. ein Hund, die Wutkrankheit übertragen kann, ehe es die ersten Symptome der Wut zeigt? Zu meinen in der zweiten Mitteilung schon veröffentlichten Erfahrungen kann ich noch folgenden interessanten und lehrreichen Fall erwähnen.

Am 18. März 1912 wurde der Sohn eines Grundbesitzers durch einen Hund gebissen, welcher bei seiner am nächsten Tage in unserem Institute unternommenen Untersuchung gar keine Zeichen einer Wutkrankheit zeigte. Am 31. März erlag dieser Hund an typischer Lyssa. Das Kind wurde sofort, als wir die ersten Symptome bemerkten, im Pasteur-Institute zu Budapest den Schutzimpfungen unterzogen und lebt heute noch. Dieser Hund biß aber, wie wir nachträglich feststellen konnten, 14 Tage vor seinem Tode einen anderen Hund, welcher nach 39 Tagen unter bei uns beobachteten typischen Wutsymptomen erlag.

In diesem Falle biß also ein Hund 13 Tage vor seinem Tode, 11 Tage vor Erscheinen der ersten Wutsymptome, ein Kind, dem wir die Schutzimpfungen anzuraten für notwendig hielten, da wir aus unseren schon veröffentlichten Erfahrungen und aus einer Beobachtung von Zagarrio wußten, daß der Hundebiß bereits 13 Tage vor dem Ausbruch der ersten Symptome die Wutkrankheit übertragen kann. Um so mehr war es uns auffallend, als wir in der jetzt (Ende Dezember 1913) erschienenen Monographie von Heller und Rothermundt (Wutschutzimpfung und Wutimmunität) p. 921, wo die Indikationen der Schutzimpfung behandelt werden, eine Tabelle von Marie-Remlinger lasen, nach welcher keine spezifische Kur notwendig sei, wenn der Hund nach 10 Tagen noch gesund ist. Die Autoren fügen noch hinzu, daß der Arzt nach diesen Grundsätzen seine Entscheidungen zu treffen habe. Hätten wir nun in diesem Falle den hier angeführten Rat befolgt, dann hätten wir das Kind der unbedingten Gefahr einer Infektion und dessen Folgen ausgesetzt, denn wir sahen, daß auch derjenige Hund an Wut einging, welcher von diesem Hunde einen Tag früher gebissen wurde, als das Kind.

Es ist allgemein bekannt, wie dies auch in meiner zweiten diesbezüglichen Mitteilung erwähnt wurde, wie schwer es auch dem Fach-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:06 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

manne ist, auf die Frage, ob in einem gegebenen Falle, wenn jemand von einem scheinbar gesunden Hunde gebissen wurde, eine befriedigende Antwort zu geben. Nach unseren Erfahrungen soll ein leichtes Schema der Schutzimpfung vorgenommen und der Hund 14 Tage hindurch beobachtet werden, wenn die Umstände des Bisses im geringsten Maße verdächtig sind. Wenn die typischen Symptome erscheinen, soll die Schutzimpfung weiter befolgt resp. beendigt werden, wenn nicht, so haben wir dadurch keinen Schaden verursacht, hingegen kann durch Versäumung der Schutzimpfung das Leben gefährdet werden. Wir unsererseits übernehmen für solche gefährliche Folgen keine Verantwortung.

Dritte Serie.

Als das Muttertier der vorherigen Serie am 1. Dez., wie wir sahen, unter den typischen Wutsymptomen zugrunde ging, fanden wir im Uterus zwei halbentwickelte Föten. Ihr Vater war auch jetzt das Männchen der vorherigen Serie, ein Meerschweinchen, das zu gleicher Zeit und mit demselben Virus infiziert wurde, wie die Mutter. Auch dieses Tier erlag der Wut an demselben Tage, wie die Mutter. Die Konzeption dieser Föten geschah beiläufig 15—20 Tage vor dem Tode des Muttertieres, da die Schwangerschaft beim Meerschweinchen gewöhnlich 30—35 Tage dauert (Richet, Dictionn. d. Physiol. T. 3. p. 930) und diese halbreif waren. Diese Föten wurden sehr sorgfältig auf Negrische Körperchen untersucht; wir konnten aber solche nicht finden. Es wurden aber aus beiden Meerschweinchen subdural Tiere infiziert.

Das aus dem ersten Foetus geimpfte Tier ging nach 29, das aus dem zweiten infizierte nach 30 Tagen unter den typischen Erscheinungen der Wut ein, und zwar nach einer Krankheitsdauer von 24 Stunden, also einige Tage später, als die aus dem Muttertiere geimpften Meerschweinchen, welche, wie wir oben sahen, nach 23 resp. 27 Tagen eingingen.

In diesem Falle konzipierte also ein mit Lyssavirus infiziertes Männchen und Weibchen 15—20 Tage vor ihrem Lyssatode solche Föten, in denen das Lyssavirus vorhanden war. Man könnte vielleicht auch an eine germinale Infektion in diesem Falle denken.

Vierte Serie.

Am 3. Sept. 1911 wird ein Hund, dessen Körpergewicht 8,7 kg war, intramuskulär mit der Markemulsion eines Hundes infiziert, welcher nach einer ebensolchen Infektion am 21. Tage an typischer Wut eingegangen war. Dieser Hund warf am 5. Nov., d. h. 63 Tage nach seiner Infektion, sechs reife Junge, deren Vater ein zu pharmakodynamischen Untersuchungen benütztes Männchen war. Die Jungen wurden sofort entwöhnt und künstlich ernährt, da wir jeden Augenblick den Ausbruch der Wut bei der Mutter erwarteten, und zwar aus dem Grunde, weil die zwei mit demselben Virus und in derselben Weise infizierten Kontrolltiere, ein Meerschweinchen und ein Kaninchen, nach 12 resp. 13 Tagen an reiner Wut eingingen. Das Muttertier erkrankte aber erst nach 11 Tagen und ging nach einer Krankheitsdauer von 24 Stunden an typischer Wut ein.

Das Schicksal dieser Jungen war folgendes:

Hündchen No. I erlag am 16. Nov., d. h. im Alter von 11 Tagen, plötzlich und wurde in der damaligen großen Kälte erstarrt aufgefunden. Zuerst glaubten wir, daß ein Frosttod vorlag, da aber Negrische Körperchen gefunden wurden, so wurde aus demselben ein

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:06 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Meerschweinchen subdural infiziert, welches am 18. Tage nach dieser Infektion an reiner Wut erlag.

Hündchen No. II ging am 17. Dez. im Alter von 43 Tagen ein. Da wir auch in diesem Negrische Körperchen fanden, wurde auch jetzt ein Meerschweinchen geimpft, welches am 21. Tage nach der subduralen Infektion an reiner, typischer Wut einging.

Hündchen No. III wurde am 5. Jan. 1912, d. h. im Alter von 2 Monaten, tot aufgefunden. Untersuchung auf Negrische Körperchen positiv. Das subdural geimpfte Meerschweinchen ging unter den typischen Erscheinungen der Wut nach einer Krankheitsdauer von 24 Stunden zugrunde, das in gleicher Weise infizierte Kaninchen erlag erst am 5. Febr. 1913, d. h. 13 Monate nach der Infektion, und zwar ebenfalls an reiner Wut.

Hündchen No. IV ging am 9. Jan. im Alter von 66 Tagen plötzlich zugrunde. Positiver Nachweis Negrischer Körperchen. Das aus ihm subdural infizierte Meerschweinchen erlag nach 15 Tagen unter den Symptomen der Lyssa.

Hündchen No. V bekam die Wut am 11. Jan., d. h. im Alter von 68 Tagen. Es wurden ebenfalls Negrische Körperchen gefunden. Ein subdural infiziertes Meerschweinchen erlag am 20. Tage nach der Infektion an typischer Wut.

Hündchen No. VI erlag am 12. Jan. im Alter von 69 Tagen und zeigte viele Negrische Körperchen. Das aus ihm subdural infizierte Meerschweinchen ging unter typischen Wutsymptomen am 21. Tage ein.

Um die Resultate meiner früheren und jetzigen Untersuchungsserien leichter überblicken zu können, fasse ich dieselben in folgender Tabelle nebeneinander zusammen (s. p. 296).

Aus den früheren und jetzigen Untersuchungen ergibt sich folgende

Zusammenfassung:

1) Das Wutvirus geht von der Mutter auf den Foetus über, wird aber inzwischen abgeschwächt; deshalb bricht die Wut an den weitergeimpften Tieren sukzessive später und später aus.

2) In diesem Uebergange scheint unter den verschiedenen Tierrassen kein Unterschied zu sein, da dies sowohl bei dem Hunde, als auch bei dem Meerschweinchen und Kaninchen vorkommt und so wahrscheinlich bei allen Tieren.

3) In solchen Untersuchungen muß man zur Probeimpfung, die nur eine subdurale sein darf, Meerschweinchen und keine Kaninchen benützen, da die Meerschweinchen der Wut gegenüber viel empfänglicher sind und daher eine schnellere und sichere Antwort geben, als die Kaninchen, welche in solchen Fällen die Wut entweder sehr spät, oder absolut nicht bekommen, was bisher außer acht gelassen wurde, und deshalb kamen die nur mit Kaninchen oder anderen Tieren arbeitenden Autoren zu falschen Schlüssen.

4) Die Beobachtungsdauer der aus den Föten infizierten Tiere muß auch in denjenigen Fällen eine längere sein, wenn jemand mit Meer-

Generated on 2019-09-15 15:07 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Serie	Abstammung der Jungen	Tot oder lebendig geboren? Lebensdauer im letzteren Falle	Aus dem Foetus infizierte	
			Meerschweinchen	Kaninchen
			erlag an der Wut nach Tagen	
I.	Meerschweinchen	4 Föten in der Leiche	2 nach 91 Tagen 1 „ 92 „ 1 „ 96 „ 4 „ 98 „	1 nach 105 Tagen 1 „ 475 „
II.	Kaninchen	4 Föten in der Leiche	2 „ 15 „	1 nach 229 Tagen
III.	Kaninchen	2 lebendige Junge, die 1 Tag lebten	aus dem I. inf. 2 nach 24 Tagen „ „ II. „ 1 „ 24 „ „ „ II. „ 1 „ 53 „	
IV.	Hund	7 Föten in der Leiche	„ „ I. „ 1 „ 18 „ „ „ II. „ 1 „ 22 „ „ „ III. „ 1 „ 22 „ „ „ IV. „ 1 „ 22 „ „ „ V. „ 1 „ 19 „ „ „ VI. „ 1 „ 19 „ „ „ VII. „ 1 „ 19 „	1 nach 78 Tagen
V.	Kaninchen	3 lebendige Junge, die 4 Tage lebten	„ „ I. „ 1 „ 23 „ „ „ II. „ 1 „ 23 „ „ „ III. „ 1 „ 23 „	1 blieb am Leben 1 an fremder Infektion 1 nach 725 Tagen
VI.	Meerschweinchen	3 lebendige Junge, I. lebte 84 Tage II. „ 90 „ III. „ 91 „	„ „ I. „ 1 „ 24 „ „ „ II. „ 1 „ 20 „ „ „ III. „ 1 „ 21 „	1 „ 215 „ 1 „ 159 „ 1 „ 161 „
VII.	Meerschweinchen	2 Föten in der Leiche	„ „ I. „ 1 „ 29 „ „ „ II. „ 1 „ 30 „	
VIII.	Hund	6 lebendige Junge, I. lebte 11 Tage II. „ 43 „ III. „ 61 „ IV. „ 66 „ V. „ 68 „ VI. „ 69 „	„ „ I. „ 1 „ 18 „ „ „ II. „ 1 „ 21 „ „ „ III. „ 1 „ 11 „ „ „ IV. „ 1 „ 15 „ „ „ V. „ 1 „ 20 „ „ „ VI. „ 1 „ 21 „	

schweinchen experimentiert, da auch diese viel später, als die aus dem Muttertiere infizierten, an der Wut erkranken.

5) Im Blute des Muttertieres zirkuliert das Wutvirus schon bei Erscheinen des ersten typischen Symptoms, des Fiebers, ja sogar noch früher, und passiert so auch die Placenta Wochen und Monate vor dem Tode der Mutter.

6) Der Hundebiß ist bereits 14 Tage vor dem Ausbruch der Wut gefährlich.

Literatur.

Dammann u. Hasenkamp, Einiges über Tollwut. II. Ist die Wut vererbbar? (Dtsche tierärztl. Wochenschr. 1908. p. 457; ref. Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 43. p. 697.)

Fermi, Ueber die Verschleppung der Lyssa durch Ratten und Mäuse. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 43. p. 218.)

—, Können die Mäuse und die Ratten sich die Tollwut durch Genuß von Wutmaterial zuziehen? (Ibid. Bd. 43. p. 221.)

—, Die Empfänglichkeit der Muriden der subkutanen Wutinfektion gegenüber. (Ibid. Bd. 43. p. 173.)

—, Ueber die besondere Virulenz des fixen Virus des antirabischen Institutes zu Sassari. (Ibid. Bd. 49. p. 521.)

Galli-Valerio, Recherches expérimentales sur la rage des rats . . . etc. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 40 p. 197 u. 318; Bd. 50. p. 318.)

—, Le virus fixe de Sassari. (Ibid. Bd. 53. p. 397.)

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:07 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Konrádi, Ist die Wut vererbbar? (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 38. p. 60.)
—, Ist die Wut vererbbar? Ist das Blut Lyssakranker infektionsfähig? (Ibid. Bd. 47. p. 203.)
Repetto, Experimentelle und histologische Beobachtungen über die Milch und die Amniosflüssigkeit eines an der Tollwut gestorbenen Schafes. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 50. p. 442.)
Remlinger, Sur l'infection des murides contre la rage par voie digestive. (Compt. rend. Soc. Biol. T. 64. No. 18.)
—, Transmission de la rage à la souris par ingestion. (Ibid. T. 65. No. 30.)
—, La rage chez les tout jeunes chiens. (Ibid. T. 65. No. 34.)
—, Rapport sur la rage. (I. Congr. internat. de pathol. comp. T. I. p. 149.)
Schindler, Tollwutimpfungen an Muriden. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 61. p. 169; Ref. Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 43. p. 699.)
Wassermann u. Keysser, Erbliche Uebertragung von Infektionskrankheiten. (Handbuch d. pathog. Mikroorg. v. Kolle-Wassermann. 2. Aufl. Bd. 1. p. 662.)
Koch, Josef, Lyssa. (Handb. d. pathog. Mikroorg. v. Kolle-Wassermann. 2. Aufl. Bd. 8.)
Heller u. Rothermundt, Wutschutzimpfung und Wutimmunität. (Handb. d. pathog. Mikroorg. v. Kolle-Wassermann. 2. Aufl. Bd. 8.)
Miessner, Kliem u. Kapfberger, Immunisierungsversuche gegen Tollwut. VIII. Uebertragung der Lyssa vom Muttertier auf den Foetus. (Arch. f. wissenschaftl. u. prakt. Tierheilk. Bd. 39. H. 3. p. 169.)

Nachdruck verboten.

Ueber den Wirkungsmechanismus des Pneumokokkenkulturfiltrates auf Meerschweinchen und Mäuse.

Von Dr. **K. Aoki,** Tokio.

Bekanntlich vermag das Aggressin bei Tieren die Virulenz der für diese Tierarten wenig virulenten Mikroorganismen erheblich zu steigern.

Indessen gelang es nicht, die Aggressinwirkung von Hühnercholera-Aggressin bei empfänglichen Tieren, wie Meerschweinchen, nachzuweisen [1]). Desgleichen konnte Hoke [2]) die aggressive Wirkung von Pneumokokken-Aggressin bei Kaninchen nicht deutlich zeigen. Ja, er beobachtete sogar einmal, daß ein Kaninchen, welches zu der minimalen tödlichen Dosis von Pneumokokken gleichzeitig das Aggressin intraperitoneal erhielt, gegen die Infektion sich refraktär erhielt und gesund blieb. Er wollte diesen Fall als eine Ausnahme betrachten. Auch wir [3]) konnten eine deutliche Wirkung des Pneumokokken-Aggressins bei Kaninchen nicht nachweisen.

Daher erschien es mir interessant, die dynamische Wirkung des bakteriellen Aggressins gegen Tiere zu untersuchen, die verschiedene Empfänglichkeit für die betreffenden Mikroorganismen aufweisen. Als Mikroorganismen wurden zu diesem Zwecke Pneumokokken, als Versuchstiere Mäuse, bzw. Meerschweinchen verwendet.

Unser Pneumokokkenstamm war so hochvirulent, daß $^1/_{1000000}$ ccm einer 24 Stunden alten Bouillonkultur bei Kaninchen und Mäusen tödliche Septikämie erzeugte. Dieser Stamm wurde fortwährend von Tier zu Tier gezüchtet.

Das Pneumokokken-Aggressin wurde folgendermaßen dargestellt: Eine 24 Stunden alte Bouillonkultur wurde durch eine Chamberland-Kerze keimfrei filtriert. Weiße Mäuse vertragen intraperitoneal 2,0 ccm

1) Arch. f. Hyg. Bd. 52. 1905.
2) Wien. klin. Wochenschr. 1906. No. 2.
3) Zeitschr. f. Immunitätsf. Bd. 7.

Generated on 2019-09-15 15:07 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

von diesem Filtrat gut, desgleichen vertrugen Meerschweinchen intraperitoneal eine große Menge dieses Filtrates. Kaninchen ließen sich mit diesem Filtrate gut immunisieren [1]).

Die erste Prüfung hatte den Zweck, nachzuweisen, ob dieses Filtrat bei Meerschweinchen aggressiv wirkt. 275—300 g schweren Meerschweinchen wurde eine untertödliche Dosis einer 48-stündigen Pneumokokkenbouillonkultur gleichzeitig mit dem Filtrat intraperitoneal eingespritzt. Aus Tabelle I ergibt sich, daß dieses Filtrat für Meerschweinchen,

Tabelle I.

Meerschweinchen	Körpergewicht	Behandlung	Resultat nach		
			24 St.	48 St.	3 Tagen
1	275 g	2 ccm Filtrat ip. + $^1/_{500}$ ccm Pneumokokkenkultur ip.	schwer krank	tot	
2	290 „	4 ccm Filtrat ip. + $^1/_{500}$ ccm Pneumokokkenkultur ip.	„ „	„	„
3	300 „	$^1/_{500}$ ccm Pneum.-Kultur ip.	gesund	gesund	gesund
4	280 „	5 ccm Filtrat ip.	„	„	„
5	300 „	2 ccm Filtrat ip. + $^1/_{100}$ ccm Pneumokokkenkultur ip.	tot		
6	295 „	$^1/_{100}$ ccm Pneum.-Kultur ip.	gesund	gesund	gesund

welche gegen diesen Mikroorganismen wenig empfänglich sind, stark aggressiv wirkt. Die Meerschweinchen, welche das Aggressin gleichzeitig mit den Pneumokokken bekamen, starben, während die anderen Tiere, die einerseits die Pneumokokken allein, andererseits das Aggressin allein bekamen, am Leben blieben, wie es Hoke damals auch mit seinem tierischen Aggressin beobachtet hat.

Es wurde dann weiter geprüft, ob dasselbe Filtrat bei der Maus die aggressive Wirkung entfalten kann. Es wurde Mäusen die minimale tödliche Dosis von Pneumokokken gleichzeitig mit dem Filtrat entweder intraperitoneal oder subkutan eingespritzt. Es ergab sich dabei, daß eine aggressive Wirkung des Filtrates bei Mäusen nicht deutlich ausgeprägt ist. Die Tiere, welche die minimale tödliche Dosis Pneumokokken gleichzeitig mit dem Aggressin bekamen, starben nicht immer schneller, als die Kontrolltiere, die nur Pneumokokken erhielten (Tabelle II).

Tabelle II.

Maus	Körpergewicht	Behandlung	Resultat nach			
			24 St.	48 St.	3 Tagen	4 Tagen
1	12—17 g	1,0 ccm Filtrat ip. + $^1/_{100000}$ ccm Pneumokokkenkultur ip.	krank	tot		
2		1,0 ccm Filtrat ip. + $^1/_{50000}$ ccm Pneumokokkenkultur ip.	„	„		
3		1,0 ccm Filtrat ip. + $^1/_{10000}$ ccm Pneumokokkenkultur sk.	munter	munter	tot	
4		$^1/_{100000}$ ccm Pneum.-Kultur ip.	tot			
5		$^1/_{50000}$ ccm Pneum.-Kultur ip.	„			
6		$^1/_{10000}$ ccm Pneum.-Kultur sk.	munter	munter	munter	krank, tot
7		2,0 ccm Filtrat ip.	„	„	„	munter

Es wurde dann weiter derselbe Versuch mit verschiedenen Mengen Filtrates angestellt. Die Mäuse erhielten verschiedene Dosen von Aggressin intraperitoneal mit der minimalen tödlichen Dosis Pneumo-

1) Zeitschr. f. Immunitätsf. Bd. 7.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:07 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

kokken. Interessanterweise hat es sich dabei herausgestellt, daß die Tiere, denen gerade die geeignete Dosis des Filtrates eingespritzt wurde, manchmal gegen die Infektion geschützt und gesund blieben (Tabelle III).

Tabelle III.

Maus	Körpergewicht	Behandlung	Resultat nach 24 St.	48 St.	3 Tagen	4 Tagen
		I. Versuch.				
8	15—18 g	1,0 ccm Filtrat ip. + $^1/_{100000}$ ccm Pneumokokkenkultur ip.	munter	munter	munter	tot
9		0,5 ccm Filtrat ip. + $^1/_{100000}$ ccm Pneumokokkenkultur ip.	„	„	„	munter, gesund
10		0,25 ccm Filtrat + $^1/_{100000}$ ccm Pneumokokkenkultur ip.	krank	tot		
11		0,1 ccm Filtrat + $^1/_{100000}$ ccm Pneumokokkenkultur ip.	„	„		
12		$^1/_{100000}$ ccm Pneum.-Kultur ip.	„	„		
13		1,0 ccm Filtrat ip.	munter	munter	munter	munter
		II. Versuch.				
14	15—18 g	1,5 ccm Filtrat ip. + $^1/_{100000}$ ccm Pneumokokkenkultur ip.	munter	krank	tot	
15		1,0 ccm Filtrat ip. + $^1/_{100000}$ ccm Pneumokokkenkultur ip.	„	gesund	gesund	gesund
16		0,5 ccm Filtrat ip. + $^1/_{100000}$ ccm Pneumokokkenkultur ip.	„	tot		
17		$^1/_{100000}$ ccm Pneum.-Kultur ip.	„	„		
		III. Versuch.				
18	15—18 g	0,1 ccm Filtrat ip. + $^1/_{100000}$ ccm Pneumokokkenkultur ip.	krank	tot		
19		0,05 ccm Filtrat ip. + $^1/_{100000}$ ccm Pneumokokkenkultur ip.	gesund	gesund	gesund	gesund
20		0,025 ccm Filtrat ip. + $^1/_{100000}$ ccm Pneumokokkenkultur ip.	krank	krank	tot	
21			„	tot		

Bemerkung: Filtrat vom I. Versuch ist von 2 Tage alter Kultur hergestellt
„ „ II. „ „ „ 20 St. „ „ „
„ „ III. „ „ „ 7 Tage „ „ „

Ich habe eine ähnliche Beobachtung gemeinsam mit Herrn Prof. Levy mit Pneumokokken gemacht. Es ist uns nämlich gelungen, Kaninchen einfach durch die Einspritzung der abgetöteten Pneumokokkenleiber gegen die gleichzeitige Pneumokokkeninfektion mit der minimalen tödlichen Dosis zu schützen[1]). Wenn die Tiere auch nicht ganz von der Infektion verschont waren, so blieben sie doch eine Zeitlang so munter, daß man glauben konnte, sie würden der Infektion nicht erliegen. Dann aber wurden sie ganz plötzlich krank und gingen ein (Tabelle IV). Die schützende Wirkung des Filtrates konnte bei der subkutanen Applikation festgestellt werden (Tabelle V). Es wurde weiter untersucht, ob diese schützende Wirkung des Aggressins lokaler oder allgemeiner Natur sei. Wie die Tabelle VI zeigt, schien diese Wirkung eine allgemeine zu sein. Diese allgemeine Resistenz blieb aber nicht lange bestehen, wie Tabelle VII zeigt. (Tab. IV, V und VI s. p. 300, Tab. VII s. p. 301.)

Weiter untersuchte ich, ob man bei Meerschweinchen auch mit verschiedenen Mengen von Aggressin eine präventive Wirkung desselben zeigen kann. Die Meerschweinchen bekamen intraperitoneal verschiedene

1) Zeitschr. f. Immunitätsf. Bd. 7.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:07 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle IV.

Maus	Körpergewicht	Behandlung	Resultat nach 24 St.	48 St.	3 Tagen	4 Tagen
		I. Versuch.				
22	13—18 g	1,0 ccm Filtrat ip. + $^1/_{100000}$ ccm Pneumokokkenkultur ip.	krank	tot		
23		0,5 ccm Filtrat ip. + $^1/_{100000}$ ccm Pneumokokkenkultur ip.	munter	munter	plötzlich krank, tot	
24		0,25 ccm Filtrat ip. + $^1/_{100000}$ ccm Pneumokokkenkultur ip.	krank	tot		
25		$^1/_{100000}$ ccm Pneum.-Kultur ip.	tot			
		II. Versuch.				
26	13—18 g	1,0 ccm Filtrat ip. + $^1/_{100000}$ ccm Pneumokokkenkultur ip.	munter	munter	munter	krank, tot
27		0,5 ccm Filtrat ip. + $^1/_{100000}$ ccm Pneumokokkenkultur ip.	krank	tot		
28		0,2 ccm Filtrat ip. + $^1/_{100000}$ ccm Pneumokokkenkultur ip.	krank, tot			
29		$^1/_{100000}$ ccm Pneum.-Kultur ip.	tot			
		III. Versuch.				
30	13—18 g	0,5 ccm Filtrat ip. + $^1/_{100000}$ ccm Pneumokokkenkultur ip.	munter	tot		
31		0,25 ccm Filtrat ip. + $^1/_{100000}$ ccm Pneumokokkenkultur ip.	„	munter	krank, tot	
32		0,1 ccm Filtrat ip. + $^1/_{100000}$ ccm Pneumokokkenkultur ip.	„	tot		
33		$^1/_{100000}$ ccm Pneum.-Kultur ip.	„	tot		

Bemerkung: Das Filtrat vom I. u. II. Versuch wurde von 2 Tage alter Kultur hergestellt. Das Filtrat vom III. Versuch wurde von 5 Tage alter Kultur hergestellt.

Tabelle V.

Maus	Körpergewicht	Behandlung	Resultat nach 3 Tagen	4 Tagen	5 Tagen	6 Tagen
34	13—18 g	1,0 ccm Filtrat sk. + $^1/_{5000}$ ccm Pneumokokkenkultur sk.	krank, tot			
35		0,5 ccm Filtrat sk. + $^1/_{5000}$ ccm Pneumokokkenkultur sk.	munter	munter	krank, tot	
36		0,25 ccm Filtrat sk. + $^1/_{5000}$ ccm Pneumokokkenkultur sk.	„	„	gesund	gesund
37		2,0 ccm Filtrat sk.	„	„	„	„
		$^1/_{5000}$ ccm Pneum.-Kultur sk.	krank	tot		

Tabelle VI.

Maus	Körpergewicht	Behandlung	Resultat nach 24 St.	48 St.	3 Tagen	4 Tagen	5 Tagen
38	15—16 g	1,0 ccm Filtrat ip. + $^1/_{10000}$ ccm Pneumokokkenkultur sk.	munter	munter	tot		
39		0,5 ccm Filtrat ip. + $^1/_{10000}$ ccm Pneumokokkenkultur sk.	„	„	munter	gesund	gesund
40		$^1/_{10000}$ ccm Pneum.-Kultur sk.	„	„	„	tot	
41		1,0 ccm Filtrat ip. + $^1/_{1000}$ ccm Pneumokokkenkultur sk.	„	„	krank	„	
42		0,5 ccm Filtrat ip. + $^1/_{10000}$ ccm Pneumokokkenkultur sk.	„	„	munter	munter	munter
43		$^1/_{10000}$ ccm Pneum.-Kultur sk.	„	krank	tot		

Generated on 2019-09-15 15:07 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Tabelle VII.

Maus	Körpergewicht	Behandlung	Resultat nach				
			6 St.	24 St.	48 St.	3 Tagen	4 Tagen
44	13—15 g	0,5 ccm Filtrat ip. + $^1/_{100000}$ ccm Pneumokokkenkultur ip.		munter	munter	munter	munter
45		0,5 ccm Filtrat ip.	$^1/_{100000}$ ccm Pneum.-K. ip.	„	„	„	tot
46		$^1/_{100000}$ ccm Pneum.-Kultur ip.		tot			
47			$^1/_{100000}$ ccm Pneum.-K. ip.	„			

Mengen Filtrats, einmal mit der untertödlichen Dose von Pneumokokken, das andere Mal mit der minimalen tödlichen Dose. Wie Tabelle VIII

Tabelle VIII.

Meerschweinchen	Körpergewicht	Behandlung	Resultat nach			
			24 St.	48 St.	3 Tagen	4 Tagen
		I. Versuch.				
7	250—300 g	4,0 ccm Filtrat ip. + $^1/_{500}$ ccm Pneumokokkenkultur ip.	schwer krank	tot		
8		2,0 ccm Filtrat ip. + $^1/_{500}$ ccm Pneumokokkenkultur ip.	krank	„		
9		1,0 ccm Filtrat ip. + $^1/_{500}$ ccm Pneumokokkenkultur ip.	leicht krank	munter	munter	
10		0,5 ccm Filtrat ip. + $^1/_{500}$ ccm Pneumokokkenkultur ip.	munter	„	„	
11		$^1/_{500}$ ccm Pneum.-Kultur ip.	„	„	„	
12		5,0 ccm Filtrat ip.	„	„	„	
		II. Versuch.				
13	250—300 g	20,0 ccm Filtrat ip. + $^1/_{100}$ ccm Pneumokokkenkultur ip.	tot			
14		15,0 ccm Filtrat ip. + $^1/_{100}$ ccm Pneumokokkenkultur ip.	schwer krank	tot		
15		10,0 ccm Filtrat ip. + $^1/_{100}$ ccm Pneumokokkenkultur ip.	krank	„		
16		8,0 ccm Filtrat ip. + $^1/_{100}$ ccm Pneumokokkenkultur ip.	krank, tot			
17		4,0 ccm Filtrat ip. + $^1/_{100}$ ccm Pneumokokkenkultur ip.	krank	„		
18		2,0 ccm Filtrat ip. + $^1/_{100}$ ccm Pneumokokkenkultur ip.	„	„		
19		1,0 ccm Filtrat ip. + $^1/_{100}$ ccm Pneumokokkenkultur ip.	„	„		
20		0,5 ccm Filtrat ip. + $^1/_{100}$ ccm Pneumokokkenkultur ip.	„	„		
21		20,0 ccm Filtrat ip.	munter	munter	munter	
22		$^1/_{100}$ ccm Pneum.-Kultur ip.	„	„	„	
		III. Versuch.				
23	250—300 g	0,5 ccm Filtrat ip. + $^1/_{10}$ ccm Pneumokokkenkultur ip.	krank	tot		
24		0,2 ccm Filtrat ip. + $^1/_{10}$ ccm Pneumokokkenkultur ip.	„	„		
25		$^1/_{10}$ ccm Pneum.-Kultur ip.	leicht krank	munter	munter	
26		0,2 ccm Filtrat ip. + $^1/_5$ ccm Pneumokokkenkultur ip.	krank	tot		
27		0,1 ccm Filtrat ip. + $^1/_5$ ccm Pneumokokkenkultur ip.	„	„		
28		$^1/_5$ ccm Pneum.-Kultur ip.	„	„		

Generated on 2019-09-15 15:07 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

zeigt, ist es uns niemals geglückt, durch die Einspritzung von Aggressinen von Pneumokokken Meerschweinchen gegen die gleichzeitige Infektion derselben Mikroorganismen zu schützen. Wenn große Mengen des Filtrats eingespritzt wurden, so wirkte es sehr stark aggressiv; verwendete man aber einerseits diejenige Menge des Aggressins, die gerade nicht mehr aggressiv gewirkt hatte, und andererseits eine stärkere, aber noch untertödliche Dose der Pneumokokken, so konnte auch diese Menge in diesem Falle aggressiv sein, so daß die Tiere eingingen. Ich ging schließlich so weit, daß die minimalste aggressiv wirkende und nicht mehr aggressiv wirkende Menge Aggressins gleichzeitig mit der minimalen tödlichen Dose der Pneumokokken eingespritzt wurde. Doch konnte ich in keinem Falle die präventive Wirkung des Aggressins wie bei der Maus beobachten (Tabelle VIII). Diese aggressive Wirkung der Pneumokokkenkulturfiltrate

Tabelle IX.

Meerschweinchen	Körpergewicht	Behandlung	Resultat nach		
			24 St.	48 St.	3 Tagen
29	200—270 g	5,0 ccm abgetötete Pneumokokkenaufschwemmung ip. + $^1/_{100}$ ccm Pneumokokkenkultur ip.	krank, tot		
30		Desgl.	„	„	
31		2,0 ccm abgetötete Pneumokokkenaufschwemmung ip. + $^1/_{100}$ ccm Pneumokokkenkultur ip.	krank	tot	
32		1,0 ccm abgetötete Pneumokokkenaufschwemmung ip. + $^1/_{100}$ ccm Pneumokokkenkultur ip.	„	krank	erholt
33		5,0 ccm abgetötete Pneumokokkenaufschwemmung ip.	leicht krank	munter	munter
34		$^1/_{100}$ ccm Pneum.-Kultur ip.	munter	„	„

Tabelle X.

Meerschweinchen	Körpergewicht	Behandlung	Resultat nach		
			24 St.	48 St.	3 Tagen
35	230—290 g	2,0 ccm Filtrat ip. + $^1/_{100}$ ccm Pneumokokkenkultur ip.	krank	tot	
36		2,0 ccm Filtrat ip., nach 3 Stunden $^1/_{100}$ ccm Pneumokokkenkultur ip.	munter	krank	tot
37		2,0 ccm Filtrat ip., nach 6 Stunden $^1/_{100}$ ccm Pneumokokkenkultur ip.	„	„	„
38		2,0 ccm Filtrat ip., nach 6 Stunden $^1/_{100}$ ccm Pneumokokkenkultur ip.	„	munter	munter
39		10,0 ccm Filtrat ip. + $^1/_{1000}$ ccm Pneumokokkenkultur ip.	krank	tot	
40		10,0 ccm Filtrat ip., nach 6 Stunden $^1/_{100}$ ccm Pneumokokkenkultur ip.	munter	munter	„
41		10,0 ccm Filtrat ip., nach 24 Stunden $^1/_{100}$ ccm Pneumokokkenkultur ip.	„	„	„
42		15,0 ccm Filtrat ip. + $^1/_{100}$ ccm Pneumokokkenkultur ip.	krank	tot	
43		15,0 ccm Filtrat ip., nach 6 Stunden $^1/_{100}$ ccm Pneumokokkenkultur ip.	munter	munter	„
44		15,0 ccm Filtrat ip.. nach 24 Stunden $^1/_{1000}$ ccm Pneumokokkenkultur ip.	„	„	„
45		$^1/_{100}$ ccm Pneum.-Kultur ip.	„	„	„
46		15,0 ccm Filtrat ip.	„	„	

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:07 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

verschwindet bei Meerschweinchen nach 6 Stunden, wie andere Autoren schon betont haben (Pane und Loti[1]), Bürgers und Hösch[2])) (Tabelle X). Die Pneumokokkenleiber konnten auch bei Meerschweinchen deutlich eine aggressive Wirkung entfalten (Tabelle IX).

Es wurden weiter Aggressinversuche mit bakteriellen und nicht bakteriellen Substanzen angestellt. Als Bakterien wurden Staphylokokken und Proteus-Bacillen, als nicht bakterielle Substanzen 5-proz. Aleuronat,

Tabelle XI.

Meerschweinchen	Körpergewicht	Behandlung	Resultat nach			
			24 St.	48 St.	3 Tagen	4 Tagen
47	250—300 g	5 ccm abgetötete B. proteus ip. + $^1/_{100}$ ccm Pneum.-Kultur ip.	krank	tot		
48		2 ccm abgetötete B. proteus ip. + $^1/_{100}$ ccm Pneum.-Kultur ip.	,,	,,		
49		5 ccm abgetötete Staphylokokkenkultur ip. + $^1/_{100}$ ccm Pneumokokkenkultur ip.	,,	,,		
50		2 ccm abgetötete Staphylokokkenkultur ip. + $^1/_{100}$ ccm Pneumokokkenkultur ip.	,,	,,		
51		4 ccm 0,5-proz. Karbolsäure ip. + $^1/_{100}$ ccm Pneum.-Kultur ip.	munter	munter	munter	
52		5 ccm Karbolsäure ip. + $^1/_{100}$ ccm Pneumokokkenkultur ip.	,,	,,	,,	
53		5 ccm Chloroformwasser ip. + $^1/_{100}$ ccm Pneum.-Kultur ip.	krank	tot		
54		2 ccm Chloroformwasser ip. + $^1/_{100}$ ccm Pneum.-Kultur ip.	,,	,,		
55		4 ccm Terpentinöl ip. + $^1/_{100}$ ccm Pneumokokkenkultur ip.	,,	,,		
56		2 ccm Terpentinöl ip. + $^1/_{100}$ ccm Pneumokokkenkultur ip.	,,	,,		
57		10 ccm 5-proz. Harnstoff ip. + $^1/_{100}$ ccm Pneum.-Kultur ip.	munter	munter	munter	
58		5 ccm 5-proz. Harnstoff ip. + $^1/_{100}$ ccm Pneum.-Kultur ip.	,,	,,	,,	
59		10 ccm 5-proz. Aleuronat ip. + $^1/_{100}$ ccm Pneum.-Kultur ip.	krank	tot		
60		5 ccm 5-proz. Aleuronat ip. + $^1/_{100}$ ccm Pneum.-Kultur ip.	,,	,,		
61		20 ccm sterile Bouillon ip. + $^1/_{100}$ ccm Pneum.-Kultur ip.	,,	,,		
62		10 ccm sterile Bouillon ip. + $^1/_{100}$ ccm Pneum.-Kultur ip.	,,	,,		
63		12 ccm sterile menschl. Ascitesflüssigkeit + $^1/_{100}$ ccm Pneumokokkenkultur ip.	munter	munter	munter	
64		5 ccm abgetötete Proteus-Bacillen ip.	leicht krank	,,	,,	
65		5 ccm abgetötete Staphylokokken ip.	munter	,,	,,	
66		4 ccm 0,5-proz. Karbolsäure ip.	,,	,,	,,	
67		5 ccm Chloroformwasser ip.	,,	,,	,,	
68		4 ccm Terpentinöl ip.	krank	,,	,,	
69		5 ccm 5-proz. Harnstoff ip.	munter	,,	,,	
70		10 ccm 10-proz. Aleuronat ip.	,,	,,	,,	
71		20 ccm sterile Bouillon ip.	,,	,,	,,	
72		10 ccm sterile Ascitesflüssigkeit ip.	,,	,,	,,	

1) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 73.
2) Zeitschr. f. Immunitätsf. Bd. 2.

Generated on 2019-09-15 15:07 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

5-proz. Harnstoff, Chloroformwasser, Terpentinöl, 0,5-proz. Karbolsäure, menschliche Ascitesflüssigkeit und sterile Bouillon angewendet. Es ergab sich, daß menschliche Ascitesflüssigkeit, 5-proz. Harnstoff und 0,5-proz. Karbolsäure bei der künstlichen Pneumokokkeninfektion gar nicht aggressiv wirkten, während die aggressive Wirkung abgetöteter Bakterien, von Chloroformwasser, 5-proz. Aleuronat und Terpentinöl sehr stark ausgeprägt war (Tabelle XI).

Das Ergebnis der obigen Versuche läßt sich folgendermaßen zusammenfassen:

1) Das Filtrat von Pneumokokkenbouillonkulturen (Aggressin) begünstigte bei Meerschweinchen die Infektion, während bei Mäusen diese aggressive Wirkung nicht deutlich zum Vorschein kam.

2) Wenn man aber der Maus weder zu viel, noch eine zu geringe Menge Filtrat intraperitoneal oder subkutan einspritzte, so wurde die gleichzeitige intraperitoneale oder subkutane Infektion mit der minimalen tödlichen Dose Pneumokokken entweder eine Zeitlang unterdrückt oder ganz vernichtet, so daß die Tiere gesund blieben.

3) Diese Tatsache konnte bei Meerschweinchen in keinem Falle festgestellt werden.

4) Die aggressive Wirkung des Filtrats bei Meerschweinchen und die schützende Wirkung desselben bei Mäusen schien bald vorüberzugehen.

Nachdruck verboten.

Studien über Trematodenlarven bei Süsswasserfischen, mit besonderer Berücksichtigung der Elb- und Alsterfische.

[Aus dem Institut für Schiffs- und Tropenkrankheiten (Direktor: Obermedizinalrat Prof. Dr. Nocht).]

Vorläufige Mitteilung.

Von Prof. Dr. **F. Katsurada,** Okayama (Japan).

Mit 1 Tafel und 10 Textfiguren.

Die Entwickelungsgeschichte der Trematoden ist nicht nur von rein wissenschaftlichem Interesse, sondern deren Kenntnis hat auch eine erheblich praktische Bedeutung, besonders für die Prophylaxe der Trematodenkrankheit. Ferner ist es manchmal viel sicherer, daß man nach den Larven irgendeines Trematoden in der Natur genau fahndet, als daß man bei den Endwirten das Vorhandensein der erwachsenen Tiere festzustellen sucht, wenn man die geographische Verbreitung des betreffenden Trematoden kennen lernen will. Aus diesen Gründen untersuchte ich seit Jahren, wenn ich Gelegenheit hatte, in Ostasien mit großem Interesse verschiedene Lebewesen, welche Zwischenwirte der Trematoden werden können, und wies nach, daß die parasitischen Trematoden des Menschen öfters durch Vermittelung von Fischen in unseren Körper gelangen. Da ich in diesem Jahre Gelegenheit hatte, eine große Reise durch Europa zu machen, konnte ich mein Untersuchungsgebiet mehr oder weniger erweitern. Besonders traf es sich sehr glücklich, daß

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:07 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Generated on 2019-09-15 15:07 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle I. Resultate der Untersuchung der Elbfische.

Name der Fische	Gewebe und Organe: Schuppen		Flossen		Fleisch		Kiemen und Kiemenhaut		Bemerkungen
	Cercarie A	Cercarie B	A	B	A	B	A	B	
Osmerus eperlanus (Stint)	—	—	—	—	—	—	—	—	In ihrer Struktur unerkennbare Cercarien an Kiemen und am Schwanze
Petromyzon fluviatilis (Fluß-Neunauge)	—	—	—	—	—	—	—	—	
Acerina cernua (Kaulbarsch)	—	—	—	—	—	—	—	—	
Pleuronectes flesus (Elbbut)	—	—	—	—	—	—	—	—	Nur eine in ihrer Struktur unerkennbare Cercarie am Schwanze
Leuciscus rutilus (Plötze)	+ GZ	—			—	+ RZ			Untersuchungen an Flossen und Kiemen nicht ausgeführt
Clupea harengus (Hering)	—	—	—	—	—	—	—	—	
Blicca bjoerkna (Plinte)	+ GZ	—			+ RZ	+ GZ	+ GZ		Im Fleisch finden sich einige sehr große Cercarien; Flossen nicht untersucht
Abramis brama (Brachsen)	+ GZ	—			—	+ GZ	+ GZ		Im Fleisch finden sich noch kleinere Cercarien; Flossen nicht untersucht
Anguilla vulgaris (Flußaal)	—	—	—	—	—	—	—	—	
Coregonus oxyrhynchus (Schnäpel)	—	—	—	—	—	—	—	—	
Perca fluviatitis (Flußbarsch)	—	—	—	—	—	—	—	—	
Esox lucius (Hecht)	—	—	—	—	—	—	—	—	
Lota vulgaris (Aalquappe)	—	—	—	—	—	—	—	—	
Alburnus lucidus (Ukelei)	+ RZ	—	+ RZ		—	+ GZ			Kiemen nicht untersucht
Leuciscus idus (Aland)	+ GZ	—	+ RZ		—	—	—	—	Mehrere Cercarien an den Flossen besitzen noch Augenflecken und keine Exkretionsblase
Lucioperca sandra (Zander)	—	—	—	—	—	—	—	—	
Barbus fluviatilis (Barbe)	—	—	—	—	—	+ RZ	—	—	Cercarien B im Fleisch sind etwas verschieden von B bei Plötze

+ positives Resultat; — negatives Resultat; GZ geringe Zahl; RZ reichliche Zahl.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

ich durch das Entgegenkommen des Instituts für Schiffs- und Tropenkrankheiten in Hamburg zahlreiche Fische von verschiedenen Arten aus der Elbe und der Alster vergleichend studieren konnte. Trotzdem mein Aufenthalt in Hamburg nur kurze Zeit währte, erzielte ich doch schon bemerkenswerte Resultate, welche mich veranlassen, hier eine vorläufige Mitteilung zu veröffentlichen.

Nach Mitteilung des Herrn Fischereidirektor Dr. Lübbert leben in der Elbe etwa 21 Arten von Fischen; davon wurden mir 17 Arten in der Zeit vom 28. Okt. bis zum 12. Nov. zugeschickt; ferner wurden mir noch 6 Arten von Fischen aus der Alster am 14. Nov. übersandt.

Bei den Fischen untersuchte ich mikroskopisch fast alle Gewebe und Organe, insbesondere aber immer Brust- und Schwanzflossen, Schuppen, Kiemen, Unterhautzellgewebe und Muskeln. Ich konnte bei gewissen Fischen zahlreiche Trematodencercarien verschiedener Arten nachweisen, von denen man jedoch 2 Hauptarten A und B unterscheiden muß. Ferner ist bemerkenswert, daß man im allgemeinen bei den Alsterfischen zahlreichere Cercarien als bei den Elbfischen findet.

Wenn ich die Resultate meiner Untersuchung der Cercarien bei den Elb- und Alsterfischen in zwei Tabellen zusammenstelle, so ergibt sich folgendes (Tabelle I s. p. 305):

Tabelle II. Resultate der Untersuchung der Alsterfische.

Name der Fische	Gewebe und Organe								Bemerkungen
	Schuppen		Flossen		Fleisch		Kiemen u. Kiemenhaut		
	Cercarie A	Cercarie B	A	B	A	B	A	B	
Plötze	+ RZ	—	+ SRZ	—	—	+ GZ	—	—	An der Schwanzflosse und im Fleisch finden sich wahrscheinlich mehr od. wenig. andere Cercarien
Brachsen	+ SRZ	—	+ SRZ	—	—	+ SRZ	—	—	Im Fleisch finden sich wahrscheinlich mehr od. wenig. kleinere Cercarien
Zander	—	—	—	—	—	+ GZ	—	—	Im Fleisch wurde nur eine Cercarie gefunden
Kaulbarsch	—	—	+ GZ	—	—	—	+ GZ	—	An der Brust- u. Schwanzflosse finden sich noch etwas größere rundliche Cercarien
Flußbarsch	—	—	—	—	—	—	—	—	
Flußaal	—	—	—	—	—	—	—	—	

+ positiv; — negativ; GZ geringe Zahl; RZ reichliche Zahl; SRZ sehr reichliche Zahl.

Nun gehe ich zur Beschreibung der beiden Hauptarten (A und B) über.

I. Cercarie A und zugehöriges erwachsenes Tier.

Wie ich schon in beiden Tabellen zeigte, findet man die Cercarie A häufig an den äußeren Teilen, so z. B. an den Schuppen, den Flossen (besonders der Schwanzflosse) und der Kiemenhaut gewisser Fische. Im Fleische findet sich diese Cercarie nur ausnahmsweise. Die Fische, bei welchen sich die Cercarie findet, sind je nach den Flüssen, wo die ersteren leben, mehr oder weniger verschieden; jedoch findet man meist

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:07 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

sehr zahlreiche Cercarien bei Brachsen, Plötze, Ukelei, Aland, Plinte usw. Ich habe einmal konstatiert, daß an dem Schwanze eines Alsterbrachsen auf einem Gesichtsfeld 20 Cercarien vorhanden waren.

Die Cyste der Cercarie A ist meist elliptisch. Die Wand der ausgebildeten Cyste besteht aus einer ziemlich dicken Kapsel, die meist hyalin ist; die neu gebildete Cyste besteht dagegen aus einer dünnen Membran. Die Größe der Cercarie, speziell der Cyste, ist je nach dem Entwickelungsgrade und dem Gewebe, an welchem sich die Cercarie befindet, mehr oder weniger verschieden; einige Beispiele gibt folgende Tabelle:

Tabelle III.

Name der Fische und der Gewebe	Nummer der Cercarie	Größe der Cercarie		Bemerkungen
		Länge (mm)	Breite (mm)	
Plötze — Schuppe	1	0,266	0,173	
Plinte — Kiemenhaut	2	0,252	0,198	
Brachsen — Kiemenhaut	3	0,28	0,173	Diese Cercarie besitzt noch 2 Augenflecken
Ukelei — Brustflosse	4	0,214	0,187	
Aland — Schuppe	5	0,214	0,180	
Durchschnittliche Größe		0,245	0,182	

Man findet jedoch an den äußeren Teilen gewisser Fische noch verschiedene andere Cercarien; sehr bemerkenswert ist es, daß man häufig an der Schwanz- und Brustflosse Cercarien antrifft, welche noch nicht encystiert sind und in deren Körpern einzelne Organe sich noch nicht



Fig. 1. Fig. 2. Fig. 3. Fig. 4.

Fig. 1. Encystierte Cercarie von der Kiemenhaut des Brachsens. 36 : 1.
Fig. 2. Encystierte Cercarie von der Schuppe der Plötze. 36 : 1.
Fig. 3. Encystierte Cercarie von der Schuppe des Brachsens. 36 : 1.
Fig. 4. Encystierte Cercarie von der Schuppe des Brachsens. 36 : 1.

ganz differenziert haben. Im Körper dieser jungen Cercarien finden sich überall gelblich-bräunliche Pigmentkörner und meist zwei schwarze Augen. Die Uebergangsformen von den letztgenannten jungen Cercarien zu den encystierten, ausgebildeten trifft man zuweilen an ein und demselben Fischschwanze an. Es ist also fast zweifellos, daß die meisten Cercarien von außen direkt, nicht per os, ins Gewebe der Zwischenwirte (speziell der Fische) gelangen und darin fest haften bleiben. Diese Ansicht vertrat ich schon im vergangenen Jahre in meinen Studien über andere Trematoden, z. B. die Cercarien von Metagonimus Yokogawai (Yakogawa yakogawa-Leiper), nachdem ich diese genau untersucht hatte.

Die Larve in der Cyste bewegt sich meist ziemlich lebhaft und weist deshalb mehr oder weniger große Schwankungen in der Gestalt auf. Während der mehr langgestreckte Körper der ausgebildeten Larve sich „umschlägt", ist die jüngste Larve in der Cyste von ovaler oder lang-elliptischer Gestalt. Junge und ausgewachsene Cercarien unter-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:07 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

scheiden sich voneinander durch die Gestalt und die Struktur. Die jüngste Larve zeigt noch keine Differenzierung einzelner Organe und besitzt zwei schwarze Augen; das Körperparenchym ist äußerst reich an Pigment. Die ausgewachsene Larve ist fast über den ganzen Körper mit relativ starken Stacheln versehen. Mund- und Bauchsaugnapf sind deutlich wahrnehmbar; man kann sogar zuweilen den Pharynx und Verdauungstraktus verfolgen. Die Exkretionsblase nimmt einen großen Teil des hinteren Körpers ein und ist Z- oder S-förmig, oder auch sanduhrförmig; sie enthält stark lichtbrechende, dunkel aussehende Körner und Kügelchen.



Fig. 5. Ein zum größten Teil aus der Cyste (Schwanz einer Alsterplötze) herausgetretenes Würmchen. Frisches Präparat. 75 : 1.

Wenn diese encystierten Cercarien an den Flossen, besonders der Schwanzflosse, längere Zeit haften, so wird das Flossengewebe in der Umgebung der Cercarien manchmal sehr stark pigmentiert. Diese Pigmentierung verursacht öfters an der betreffenden Stelle makroskopisch erkennbare, schwarze Fleckenbildungen. Darauf, daß Pigmentierungen dieser Art auch in der Umgebung der Cercarien von Metagonimus Yokogawai bei gewissen Fischen vorkommen, wurde schon durch uns (Katsurada und Hashegawa) aufmerksam gemacht. Es scheint mir deshalb zwischen der Cercarie A und derjenigen von Metagonimus eine gewisse Aehnlichkeit zu bestehen.

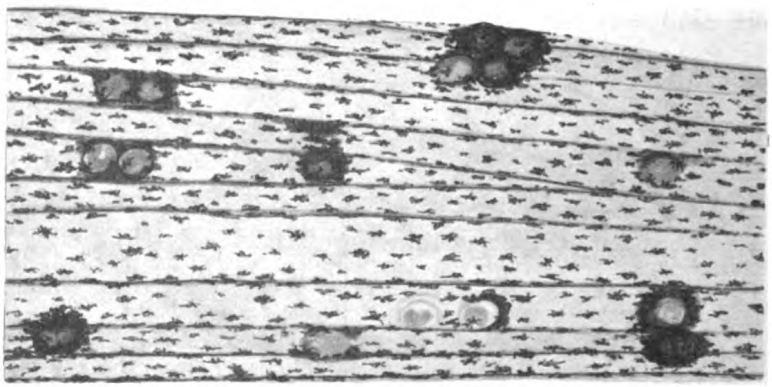


Fig. 14. Mehrere Cercarien (Art A) am Schwanze des Brachsens aus der Alster; die Umgebung der Cercarien ist stark pigmentiert. In Pacinischer Flüssigkeit konserviertes Präparat.

Ich habe am 15. Nov. eine Katze mit 2 Alster-Brachsen (Fleisch mit Haut und Schuppen), welche mit den Larven A (und auch mehr oder weniger mit anderen Cercarien) behaftet waren, gefüttert. Die Katze starb am 22. Nov. infolge von Diarrhöen; ich sezierte sie an demselben Tage: Im gesamten Dünndarm fand sich fast kein Inhalt, nur im untersten Teile desselben war ein bräunlich-grauweißer, dickschleimiger Inhalt in geringer Menge. Die Schleimhaut des Dünndarms war injiziert und auf der Innenfläche stellenweise mit eiterig-fibrinösem Exsudat bedeckt. Die Follikularapparate waren geschwollen. Der Dickdarm enthielt mehr flüssigen Inhalt in relativ großer Menge; die Schleimhaut war nicht besonders injiziert. Der Magen war ganz leer. An der Leber

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:07 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

fand sich nichts Besonderes. Ferner war die Umgebung des Anus mit rötlich-braunem, flüssigem Stuhl schon vor der Sektion beschmutzt. Durch Abstreichen von der Schleimhautfläche des Dünndarmes mit dem Messer gelang es mir, mehrere ziemlich erwachsene Trematoden unter das Mikroskop zu bringen.

Der Trematode ist noch sehr klein, trotzdem er schon ziemlich geschlechtsreif ist; die Größe eines relativ gut entwickelten Tieres beträgt 0,805 mm in der Länge und 0,253 mm in der Breite; die beiden Saugnäpfe sind fast kreisrund; der Durchmesser des Mundsaugnapfes beträgt 0,0720, der Längs- und Querdurchmesser des Pharynx 0,0504:0,0396 mm. Die Gestalt des Tieres ist je nach der Art der Bewegungen etwas verschieden, aber im allgemeinen spatel- oder blattförmig, indem das vordere $^1/_3$—$^2/_5$ des Körpers schmäler ist und sich gewöhnlich durch eine Einziehung von dem breiten, hinteren Körperteil abhebt. Nach dem Absterben des Tieres kontrahiert sich gewöhnlich der schmale Vorderkörper mehr oder weniger und wird breiter. Der größte Teil des Tierkörpers besitzt dichtstehende Stacheln in der Haut, die auf dem vorderen Körperteile viel stärker als auf dem hinteren sind. Auf dem Hinterende des Körpers fehlen die Stacheln meist ganz.

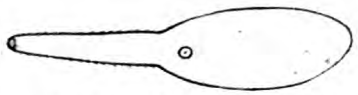


Fig. 6. Lebendes Würmchen aus dem Darme einer Katze. 36:1.

Der Bauchsaugnapf liegt in der Mittellinie und fast in der Mitte der Länge des Körpers. Dem Mundsaugnapfe folgt der Pharynx unmittelbar; ihm schließt sich der relativ sehr lange Oesophagus an, welcher sich ungefähr auf $^1/_3$ der Körperlänge erstreckt. Die Gabelstelle des Darmes findet man an der Grenze zwischen dem vorderen und mittleren Körperdrittel oder an dem vorderen Teile des mittleren Körperdrittels; die beiden Darmschenkel verlaufen nach hinten dem Seitenrande des Körpers entlang und endigen nahe am Hinterende blind.

In dem hinteren Körperabschnitte befinden sich die beiden Hoden, die stets voreinander liegen und flach eingekerbt sind. Direkt vor den Hoden liegt der Keimstock, der kleiner als der Hoden aussieht. Neben dem Keimstock findet man ein mit Sperma gefülltes Receptaculum seminis. Die Dotterstöcke, welche aus zahlreichen Acinis zusammengesetzt sind, beginnen in der Höhe des Bauchsaugnapfes und erstrecken sich bis fast zum Ende des Körpers. Zwischen den Dotterstöcken und wieder zwischen dem Keimstocke und dem Bauchsaugnapfe liegen die Uterusschlingen. Der Genitalporus liegt direkt vor dem Bauchsaugnapf; hier ist der Endabschnitt des Vas deferens zu sehen. Der Exkretionsporus ist endständig.

Die Eier sind oval, aber die Verschmälerung des vorderen Pols ist nicht so bedeutend, wie die der Eier von Distomum spathulatum (Clonorchis sinensis). An der Stelle, wo sich das Deckelchen ansetzt, ist der Rand der Eischale etwas verdickt, in fast gleicher Art wie bei den Eiern von Distomum spathulatum (die Grenze des an dem vorderen Pole liegenden Deckelchens ist also deutlich erkennbar). An dem hinteren Pole der Eischale findet sich ein hakenförmiger Fortsatz, der manchmal knotenförmig aussieht. Die Eischale besitzt eine mittlere Dicke und ist doppelt konturiert; ihre Farbe ist gelblich-bräunlich. In der Innenseite der Schale findet sich eine dünne Schalenhaut und in dem Innenraume der letzteren konstatierte ich bei meinem Material das Vorhandensein von Dotterzellen sowie der Eizelle; möglicherweise entwickeln sich übrigens in den Uteruseiern der ausgewachsenen Tiere auch

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:07 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Miracidien. Die Eier sind meist 0,0360 mm lang und 0,0223 mm breit; diese bilden demnach eine Zwischenform zwischen denen von Distomum spathulatum und denen von Metagonimus yokogawai.

Bezüglich der Entscheidung, ob der oben erwähnte Trematode eine neue Art ist, muß man sehr vorsichtig sein. Meines Wissens ist ihm nur Distomum albidum (Metorchis albidus) sehr ähnlich, aber nach der Originalbeschreibung von Braun[1]) ist der Oesophagus von Distomum albidum ganz kurz (gegenüber dem sehr langen Oesophagus meines Trematoden); die Dotterstöcke nehmen nur das mittlere Körperdrittel ein (wogegen mein Trematode eine große Ausdehnung der Dotterstöcke zeigt), endlich ist die Größe der Eier ein Unterscheidungsmerkmal zwischen den beiden Arten.

Wenn ich aus den eben genannten Gründen unseren Trematoden als eine neue Art ansehen darf, möchte ich ihm den Namen „Metorchis oesophagolongus" n. sp. geben.

Was ist aber nun der eigentliche Endwirt des Metorchis oesophagolongus und welche pathogene Bedeutung hat der letztere? Ich hoffe, diese Frage in den nächsten Jahren in Angriff nehmen zu können.

Ich vermute jedoch schon jetzt, daß die meisten endoparasitischen Trematoden, die bei den höheren Wirbeltieren vorkommen, auch beim Menschen mindestens vorübergehend parasitieren können. Wenn auch die Katze kein eigentlicher Wirt für Metorchis oesophagolongus ist, so scheint es doch wahrscheinlich, daß zwischen der Darmentzündung, welche den Tod der zu meinem Experimente gebrauchten Katze herbeigeführt hat, und der Invasion des Metorchis oesophagolongus eine innige Beziehung besteht. Da nach meiner Erfahrung die für den Wirt gefährlichste Zeit der Trematodeninfektion mit dem Beginne ihrer Befruchtung zusammenfällt[2]), so scheint mir die zu meinem Experiment gebrauchte Katze gerade in dem Stadium, in welchem erst einige Eier abgelegt wurden, gestorben zu sein. Bei der mikroskopischen Untersuchung des Kotes vom Menschen in Ostasien fanden wir manchmal Eier, die denjenigen von Metorchis oesophagolongus ähnlich waren; damals glaubte ich, daß die Eier atypische Formen des Distomum spathulatum seien; jetzt kann ich aber mit großer Wahrscheinlichkeit sagen, daß die sogenannten „atypischen" Eier solche von Metorchis oesophagolongus oder die eines dem letzteren nahestehenden Parasiten gewesen sind.

Ferner ist Metorchis oesophagolongus in biologischer Beziehung dem Metagonimus yokogawai mehr oder weniger ähnlich; so z. B. in der Form der Cercarie, der starken Bestachelung des ganzen Körpers, dem langen Oesophagus und dem schnellen Wachstum. Wo der Wohnort im Körper des Endwirtes ist, darüber kann man erst eine genauere Kenntnis erlangen, nachdem man bei reichlichem Material exakte Beobachtungen gemacht hat; bei meinem experimentellen Falle fanden sich die Metorchis oesophagolongus nur in dem Dünndarm.

II. Cercarie B und zugehöriges erwachsenes Tier.

Die Cercarie B ist auch sehr verbreitet und wird hauptsächlich im Mnskelfleisch mehrerer Fische aus der Elbe und der Alster gefunden;

1) Braun, M., Centralbl. f. Bakt. Bd. 14. 1893. No. 12—13.

2) So ist z. B. das gefährlichste Stadium der Schistosomiasis japonica etwa einen Monat nach der Infektion; erst in diesem Stadium legen die japanischen Schistosomen ihre Eier ab.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:07 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

insbesondere wies ich das Vorhandensein zahlreicher Cercarien dieser Art bei Plötzen, Brachsen, Barben, Plinten, dem Ukelei usw. nach.

Im Fleische fand ich nur encystierte Cercarien. Die Cyste ist im allgemeinen rundlich, ihr Durchmesser schwankt je nach dem Einzelfalle mehr oder weniger. So z. B. beträgt der Durchmesser der Cyste einer Cercarie im Fleische der Elbplötze 0,324 mm und die Dicke der Cystenwand 0,0288 mm, während die Cyste einer Cercarie im Fleische von Elbbrachsen 0,317 mm lang und 0,306 mm breit ist. Ferner fand ich im Fleische der Barbe ziemlich zahlreiche große, rundliche Cercarien, welche eine der den oben erwähnten Cercarien fast gleiche Struktur zeigen. Nur ist die Cystenwand dieser Cercarien nicht so glatt, wie die der oben genannten; ihr Durchmesser beträgt 0,360 mm. Die eigentliche Cystenwand ist auch homogen, aber in der unmittelbaren Umgebung derselben findet man manchmal noch eine dickere Umhüllung, deren Dicke zuweilen 0,090 mm beträgt und die ein faserig-körniges Aussehen hat.

Die in der Cyste sitzende Larve besitzt einen plump-ovalen Körper, in welchem sich eine sehr merkwürdige Exkretionsblase findet. Der Mundsaugnapf und Pharynx sind immer durch die Kapsel hindurch erkennbar,



Fig. 7.



Fig. 8.



Fig. 9.

Fig. 7. Encystierte Cercarie im Fleisch der Plötze. 36 : 1.
Fig. 8. Encystierte Cercarie im Brachsenfleisch. 36 : 1.
Fig. 9. Encystierte Cercarie im Fleisch der Barbe. 36 : 1.

während die einzelnen Geschlechtsorgane meist nicht wahrnehmbar sind. Die Haut ist mit ganz feinen und kurzen Stacheln versehen; zuweilen kann man schwer entscheiden, ob die Haut selbst streifig aussieht oder wirklich bestachelt ist. Die durch Druck aus der Kapsel herausgetretene Cercarie ist auch plump-oval; sie ist 0,486 mm lang und 0,360 mm breit; der Querdurchmesser des Mundsaugnapfes ist 0,0576 mm und der des Pharynx 0,0324 mm.

Zu welchen Tieren diese Cercarien sich entwickeln, konnte auch nur die experimentelle Infektion ergeben. Zu diesem Zwecke fütterte ich am 15. Nov. mehrere Mäuse mit dem Fleische der Alsterplötze, nachdem ich in demselben das Vorhandensein der typischen Cercarien mikroskopisch nachgewiesen hatte; in diesem Fleische fand ich aber außer den typischen Cercarien noch eine Anzahl kleinerer Cercarien, deren Struktur jedoch fast gleich der der typischen war.

Unter den Mäusen fand ich bei einer 20 Stunden nach der Fütterung getöteten mehrere sich frei und lebhaft bewegende junge Würmer im obersten Teile des Dünndarms; die Struktur dieser Tierchen zeigt keinen großen Unterschied gegenüber derjenigen der Cercarien in den Cysten; man sieht aber deutlich einen kleinen, rundlichen Bauchsaugnapf in der Mitte der Bauchseite. Eines dieser Tierchen ist 0,506 mm lang und 0,22 mm breit; der Durchmesser des Bauchsaugnapfes beträgt 0,026 mm, der Querdurchmesser des Mundsaugnapfes 0,042 mm. Eine 42 Stunden nach der Fütterung getötete Maus zeigte im oberen Teile ihres Dünn-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:07 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

darmes mehrere schon weiter entwickelte Würmchen; darunter ein relativ gut entwickeltes, das 0,44 mm lang, 0,33 mm breit war und bei dem der Querdurchmesser des Mundsaugnapfes 0,0648 mm, der des Pharynx 0,036 mm, der des Bauchsaugnapfes 0,0324 mm betrug. Die Körperorganisation dieser Würmchen ist nicht so sehr verschieden von der der 20 Stunden alten.

Zuletzt habe ich eine Maus nach 4 Tagen untersucht. Im oberen Teile des Dünndarmes fanden sich wieder mehrere Trematoden, welche den vorher experimentell erhaltenen Tierchen sonst gleichartig und nur weiter entwickelt waren. Diese jungen, 4 Tage alten Tiere waren schon geschlechtsreif, trotzdem ihre Körper noch nicht ganz ausgewachsen waren. Ich beobachtete ferner die interessante Tatsache, daß ein kleiner Trematode, dessen Körperlänge 0,522 mm und dessen Breite 0,378 mm betrug, schon ein ovales Ei von einer Größe von 0,116 mm und 0,076 mm in seinem Körper gebildet hatte (diese Messung wurde bei einem in Pacinischer Flüssigkeit konservierten Präparat gemacht). Ferner beobachtete ich, daß zahlreiche Samentierchen von der Genitalöffnung der jungen Trematoden lebhaft beweglich heraustraten.

Die jungen Trematoden bewegen sich lebhaft, wodurch sich ihre Körperformen mehr oder weniger verändern. Aber im allgemeinen sind die Würmer plump-oval und ihr vorderer Körperteil platt und etwas stärker verschmälert als der hintere, auch sind die Bewegungen des Vorderkörpers lebhafter als die des Hinterkörpers. Es ist sehr merkwürdig, daß man auf der Ventralfläche des hinteren Körpers eine Vertiefung findet. Die Oberfläche des Körpers ist mit feinen und kurzen Stacheln bedeckt, welche jedoch manchmal nicht deutlich erkennbar sind.

Am vorderen Ende liegt der rundliche Mundsaugnapf, diesem folgt der Pharynx, welcher sich in den kurzen Oesophagus fortsetzt. Die Gabelungsstelle des Darmes liegt an der Grenze zwischen dem ersten und zweiten Körperviertel; die beiden Darmschenkel verlaufen nach hinten in einer Bogenlinie und endigen blind im Hinterkörper. Der Exkretionsporus liegt am Hinterende, etwas rückwärts verschoben.

Das zweite Saugorgan befindet sich fast in der Mitte auf der Ventralseite und ist bedeutend kleiner als der Mundsaugnapf; dieser Saugnapf zeigt übrigens ein dem Querschnitt eines Drüsenganges ähnliches Aussehen, da bei ihm nur wenige Muskelfasern vorhanden sind.

Die Genitalöffnung liegt ein wenig hinter der Körpermitte (auch hinter dem Bauchsaugnapf), deren Umgebung hügelförmig (oder genitalnapfartig) etwas hervorgehoben ist.

Von den Geschlechtsorganen entwickeln sich die Dotterstöcke üppig; sie liegen im Hinterleibe um die Genitalöffnung und sind „chrysanthemumartig“ gestaltet. Die großen, unregelmäßig ovalen Hoden liegen nahe am hinteren Körperende schräg hintereinander. Trotzdem die von mir beobachteten Würmchen nur 4 Tage alt waren, war ihre Vesicula seminalis schon mit Samentierchen angefüllt.

Das Ei ist oval, am vorderen Pole gedeckelt. Die Schale ist dünn, aber doppelt konturiert, bräunlich-gelb. Als Inhalt fand ich zu der angegebenen Zeit nur gekörnte Zellen; ihre Größe beträgt 0,116 mm in der Länge und 0,076 mm in der Breite.

Hätte dieser Trematode im Körper größerer Wirte parasitiert und hätte sein Leben noch längere Zeit gedauert, so würde er sicher noch größer geworden sein. Diese Tatsache habe ich schon öfters bei anderen Trematoden, z. B. bei dem Distomum spathulatum und dem Schistosomum japonicum, nachgewiesen.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:07 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Meines Wissens wurde über einen Parasiten, welcher mit unserem Trematoden ganz gleichartig ist, noch nichts veröffentlicht. Nur dem Heterophyes ähnelt die Körpergestalt unseres Trematoden einigermaßen, aber ersterer hat den Genitalnapf seitlich und hinter dem Bauchsaugnapf, während bei dem letzteren der Genitalporus in der Mittellinie liegt. Ferner zeigt die Organisation des Hinterleibes unseres Trematoden in einigen Punkten mit einzelnen Arten der Familie der Holostomidae eine gewisse Aehnlichkeit, aber von diesen unterscheidet er sich schon dadurch, daß bei unserem Trematoden der für die Familie der Holostomidae charakteristische Haftapparat fehlt. Unser Trematode kann deshalb eine bisher noch unbekannte neue Art sein, trotzdem man annehmen kann, daß er in Europa sehr weit verbreitet sei. Ich möchte dem Trematoden vorläufig den Namen „**Paracoenogonimus ovatus**“ (Looss brauchte schon 1900 die Bezeichnung „Coenogonimus“ für Heterophyes) geben und die Gattung Paracoenogonimus neu aufstellen.

Der normale Wirt des Paracoenogonimus ovatus scheint mir nicht der Mensch zu sein (trotzdem er bei diesem zufällig und vorübergehend parasitieren mag), sondern größere Säugetiere oder Vögel.

III. Sonstige Cercarien.

Außer den oben erwähnten Cercarien A und B fand ich noch mehrere encystierte Cercarien bei gewissen Fischen. Leider konnte ich während meines kurzen Aufenthaltes in Hamburg von einzelnen Cercarien experimentell erwachsene Trematoden — besonders Opisthorchis felineus — experimentell nicht erhalten. Sehr interessant sind in dieser Beziehung die beiden ausgezeichneten Arbeiten von Askanazy[1]): „Ueber die Quelle der Infektion mit Distomum felineum“; es ist mir nur zweifelhaft, ob die von ihm im Fleisch der Tapare (Aland) gefundenen Cercarien (0,40 : 0,38 mm; 0,52 : 0,49 mm) wirklich die von Opisthorchis felineus gewesen sind. Ich habe einmal im Fleische der Plinte neben den Cercarien B bedeutend größere Cercarien (0,486 mm lang und 0,324 mm breit) gesehen; die Größe dieser Cercarien gleicht also ziemlich derjenigen der Cercarien, welche von Askanazy gefunden wurden, aber die ersteren besitzen eine sehr lange und große Exkretionsblase und auf der Körperoberfläche dichte, feine Stacheln. Ferner fand ich ein andermal im Fleische des Alandes aus der Alster anscheinend 3 Arten von Cercarien; darunter war eine Art Cercarie B und die anderen dürften zwei noch unbekannte Arten sein. Eine der letztgenannten war sehr groß, aber elliptisch und mißt 0,360 mm in der Länge und 0,306 mm in der Breite. Schließlich kann ich zurzeit nur sagen, daß die Askanazyschen Cercarien unseren Cercarien B sehr ähneln.

Die Schlüsse, die ich aus den vorliegenden Untersuchungen ziehen zu dürfen glaube, sind folgende:

1) Zahlreiche Trematodenlarven finden sich bei gewissen Fischen, welche in der Elbe und besonders in der Alster leben.

2) Von diesen Trematodenlarven kann man zwei stark verbreitete Hauptarten, die Cercarie A und die Cercarie B, unterscheiden.

1) Askanazy, M., Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. 28. 1900; Schr. d. Physik.-ökonom. Gesellsch. zu Königsberg i. Pr. Jahrg. 46. 1905. p. 127.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:07 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

3) Durch Tierexperimente erhielt ich von der Cercarie A einen neuen Trematoden — Metorchis oesophagolongus — und von der Cercarie B „Paracoenogonimus ovatus".

4) Der normale Endwirt der beiden Trematoden scheint mir nicht der Mensch zu sein, sondern Säugetiere oder Vögel; es ist jedoch wahrscheinlich möglich, daß diese Trematoden gelegentlich auch bei dem Menschen, wenigstens vorübergehend, parasitieren können.

5) Durch die Untersuchungen wurde meine schon früher veröffentlichte Vermutung bestätigt, daß die den ersten Zwischenwirt verlassenden Cercarien meist von außen direkt, nicht oral, ins Gewebe des zweiten Zwischenwirtes, speziell des Fisches, gelangen.

Es sei mir schließlich gestattet, Herrn Prof. Nocht, der mir in liebenswürdigster Weise die Erlaubnis erteilt hat, im Institute zu arbeiten, sowie Herrn Prof. Fülleborn für die wertvollen Ratschläge bei diesen Studien, Herrn Fischereidirektor Lübbert für die Besorgung der Fische und Herrn Prof. Lühe in Königsberg für die Beschaffung der Literatur meinen herzlichsten Dank auszusprechen. Ferner ist es mir eine angenehme Pflicht, bei dieser Gelegenheit allen Herren des Institutes, welche mich während meines Aufenthaltes in Hamburg stets freundlichst unterstützt haben, meinen verbindlichsten Dank zu sagen.

Hamburg, im November 1913.

Erklärung der Tafel.

Fig. 10. Metorchis oesophagolongus (1 Woche nach der Fütterung mit Brachsen aus der Alster). In Pacinis Flüssigkeit konserviertes Präparat; Vergr. etwa 250.

Fig. 11. Ei von Metorchis oesophagolongus. Vergr. etwa 1000.

Fig. 12. Paracoenogonismus ovatus (etwa 4 Tage nach der Fütterung mit Fleisch der Plötze aus der Alster). In Pacinis Flüssigkeit konserviertes Präparat; Vergr. etwa 250.

Fig. 13. Ei von Paracoenogonimus ovatus. Vergr. etwa 1000.

Nachdruck verboten.

Weitere Untersuchungen über chronischen Alkoholismus und Anaphylaxie.

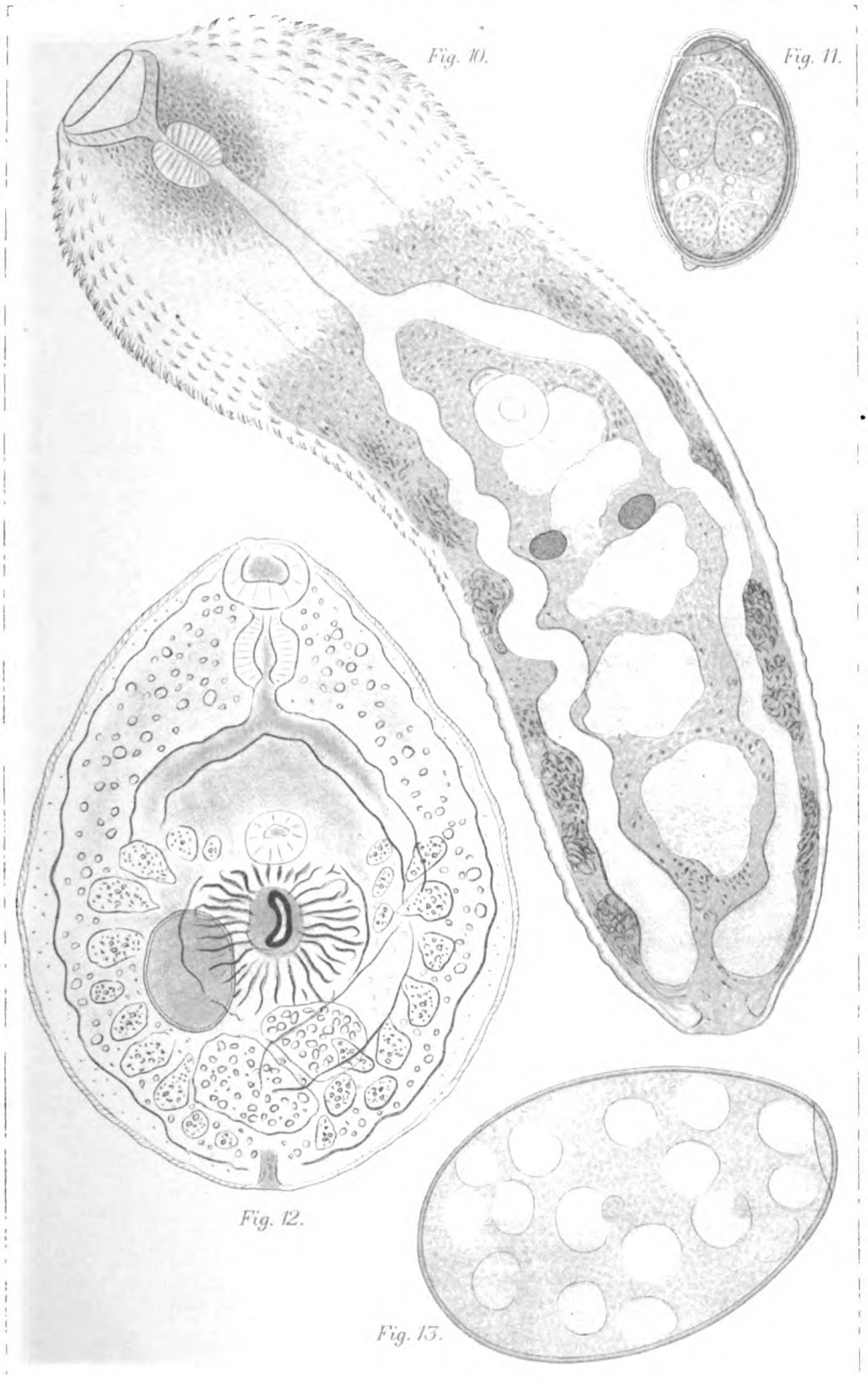
[Aus dem Hygienischen Laboratorium des Kaiserl. klinischen Institutes der Großfürstin Helena Pawlowna. (Vorstand: Prof. Dr. G. W. Chlopin; Leiter der bakteriologischen Abteilung: Assistent Privatdoz. Dr. G. D. Belanowsky in St. Petersburg.)]

Von Dr. **E. Manoiloff,** St. Petersburg.

In einer früheren, gemeinsam mit Dr. Zboromirsky im Laboratorium der Bechterewschen Psychiatrischen Klinik gemachten Arbeit[1]) konnten wir feststellen, daß, wenn man Serum eines chronischen Alkoholikers einem Kaninchen oder Merschweinchen intravenös (Kaninchen) oder intraperitoneal (Meerschweinchen) einverleibt und nach 48 Stunden Alkohol intravenös einverleibt, die Tiere mehr oder weniger erkranken,

1) Chronischer Alkoholismus und Anaphylaxie. (Obozrenie Psychiatrie. 1912. No. 30.) [Russisch.]

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:07 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google



Verlag von Gustav Fischer in Jena.

Generated on 2019-09-15 15:07 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-15 15:07 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Digitized by Google

Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

ähnlich wie man es bei anaphylaktischen Erscheinungen zu sehen gewohnt ist.

Wir hatten mit Zboromirsky 6 Alkoholiker in verschiedenen Stadien der alkoholischen Erkrankung untersucht, und zwar 1 Dipsomania, 1 Dementia paralytica, 1 Delirium tremens, 1 Paranoia alcoholica und 2 Fälle von chronischem Alkoholismus.

Die Technik der Versuche war die gewöhnliche. Man nahm frisches, aktiviertes Serum der Kranken, womöglich gleich nach dem Alkoholrausche, und spritzte intraperitoneal bzw. intravenös 1—2 ccm den Tieren ein. Nach 24—48 Stunden, in einem Falle nach 14 Tagen, wurde 1 ccm 48-proz. Alkohols reinjiziert. Diese Dosis löste bei Kontrolltieren keine Erscheinungen aus.

Ich hatte mir die Aufgabe gestellt, zu erforschen, ob es möglich sei, wenn man längere Zeit hindurch den Tieren Alkohol intravenös resp. intraperitoneal verabreicht, später mit ihrem Serum passive Anaphylaxie hervorzurufen.

Meine Vermutung rechtfertigte sich, und die gewonnenen Resultate dürften von gewissem Interesse ein.

Material und Untersuchungstechnik.

Es wurden von 60-proz. Alkohol sukzessive jeden 2. Tag 0,2, 0,3, 0,4, 0,5, 0,6, 0,7, 0,8, 0,9, 1,0, 1,10, 1,20, 1,30, 1,40, 1,50 ccm intravenös Kaninchen eingespritzt. Nach 14 Einspritzungen wurde dies (14 Einspritzungen) mit 80-proz. Alkohol und endlich mit 95-proz. Alkohol von 0,3—1,50 ccm (14mal) wiederholt.

Nachdem das Tier 1,50 ccm (D. L. pro kg 0,75) 95-proz. Alkohols vertragen konnte, wurde es entblutet.

Von dem gewonnenen Serum wurden etwa 12—15 ccm einem anderen Kaninchen intravenös einverleibt.

Eigene Untersuchungen.

I. Tierversuche.

I. Weißes Kaninchen, 1580 g, Temperatur 38,2° C. Vom 2. März bis 16. April wurde jeden 2. Tag sukzessive 0,3—1,50 ccm einer 60-proz. Alkohollösung intravenös einverleibt (im ganzen 7,9 ccm).

Vom 18. April bis 17. Mai wurde dasselbe mit 80-proz. Alkohol wiederholt (im ganzen 7,97 ccm); endlich vom 20. Mai bis 19. Juni dasselbe mit 95-proz. Alkohol (im ganzen 7,92 ccm).

Das Versuchstier bekam im ganzen 23,76 ccm Alkohol (durchschnittlich 78,1-proz.).

Am 21. Juni wurde das Versuchstier entblutet und etwa 12 ccm inaktivierten Serums dem Kaninchen No. 41 intravenös einverleibt. Nach 48 Stunden wurde 0,5 ccm 95-proz. Alkohols intravenös eingespritzt. Das Tier zeigte typische anaphylaktische Erscheinungen und starb nach einigen Sekunden. Während der Versuchsperiode betrug die Gewichtsabnahme 75 g.

Sektion ergab: Lungenblähung, Leberhyperämie; Magen stark hämorrhagisch.

II. Versuchstier. Schwarzes Kaninchen, Gewicht 1830 g, Temperatur 39° C. Vom 12. März bis 23. Juni wurde, wie bei Kaninchen No. 1, zuerst mit 60-proz., dann mit 80-proz., endlich mit 95-proz. Alkohol immunisiert.

Am 24. Juni wurde das Versuchstier entblutet, etwa 15 ccm inaktivierten Serums einem Kaninchen No. 42 intravenös und nach 47 Stunden 0,6 ccm einer 95-proz. Alkohollösung reinjiziert. Das Tier zeigte krankhafte Erscheinungen, wie wir sie bei echter Anaphylaxie zu sehen gewohnt sind, erholte sich jedoch nach 3—4 Stunden und blieb dann munter.

III. Versuchstier. Buntes Kaninchen, Gewicht 2020 g, Temperatur 38,6° C. Es wurde auch dieses Versuchstier ganz so immunisiert wie Kaninchen No. I und II. Vom 14. März bis 28. Juni 1913 bekam es 14 ccm 60-proz., 12 ccm 80-proz. und 9 ccm 95-proz. Alkohol, im ganzen 34 ccm. Am 29. Juni wurde das Versuchstier entblutet und etwa 15 ccm inaktivierten Serums einem anderen Kaninchen, No. 43, intravenös

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:07 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

einverleibt. Nach 48 Stunden wurde 0,6 ccm einer 95-proz. Alkohollösung reinjiziert. Das Tier zeigte typische anaphylaktische Erscheinungen. Etwa nach $1^1/_2$ Stunden erholte es sich aber.

Die Versuchstiere No. IV und V zeigten bei Reinjektion dieselben Resultate wie die Tiere No. I, II und III. Das Gewicht vor der Entblutung war bei sämtlichen Tieren vermindert.

Die Versuche mit Meerschweinchen ergaben ähnliche Resultate wie die bei Kaninchen.

Es wurde das Blutserum der Versuchstiere vor dem Versuche und nach der Entblutung der Tiere auf die Komplemente hin untersucht; es zeigte sich, daß das Komplement nach der Entblutung der alkoholisierten Tiere um etwa 50 Proz. vermindert war.

Ferner wurde der Lipoidgehalt des Blutes vor dem Versuche und nach der Entblutung untersucht; es zeigte sich dabei, daß der Lipoidgehalt nach der Entblutung bedeutend vermindert war[1]).

Aus obigen Versuchen geht hervor, daß die Tiere, die mit dem Serum der alkoholisierten Tiere vorbehandelt worden waren, nach Reinjektion mit Alkohol typische anaphylaktische Erscheinungen zeigten; Kaninchen No. 1 starb sogar blitzschnell, wie dies ja oft beim echten anaphylaktischen Phänomen vorkommt.

Die Resultate meiner Untersuchungen will ich im folgenden kurz zusammenfassen:

Wenn man Kaninchen, resp. Meerschweinchen längere Zeit mit Alkohol immunisiert, so können die Tiere nach einer gewissen Zeit die maximal tödliche Dosis ganz gut vertragen, ohne merklich krank zu werden; sie nahmen während der Versuchszeit nur an Gewicht ab, blieben aber sonst ganz munter.

Wenn man solchen mit Alkohol vorbehandelten Tieren Blutserum entnimmt und anderen Tieren einverleibt und nach 48 Stunden oder auch später Alkohol reinjiziert; so bekamen wir infolgedessen bei den Versuchstieren typische anaphylaktische Erscheinungen.

Schluß.

Das Serum der alkoholisierten Tiere kann passive anaphylaktische Erscheinungen auslösen, dabei sind Komplement und Lipoide bedeutend vermindert.

Nachdruck verboten.

Ueber Versuche zur Immunisierung gegen Mäusekrebs[2]).

[Aus dem Kgl. Hygienischen Institut der Universität Breslau (Direktor: Geh. Med.-Rat Prof. Dr. R. Pfeiffer).]

Von Dr. **Harry Koenigsfeld,** Assistenten am Institut.

Mit 4 Textfiguren.

Es existierten schon vereinzelte Mitteilungen über transplantable Tiergeschwülste, als Jensen in seinen klassischen Arbeiten die allgemeine Aufmerksamkeit auf diese interessanten Tumoren lenkte und damit die moderne experimentelle Krebsforschung begründete.

1) Die Lipoide wurden nach den bekannten Methoden mittels Alkohol (1 : 10) aus dem Blute extrahiert. In meinem Falle vor dem Versuche gab mittels $PtCl_2$ 1 : 2000 eine Reaktion bei 20 Tropfen, nach dem Entbluten erst bei 38 Tropfen.

2) Die Mittel für die Untersuchungen wurden von der Von Baildon-Stiftung zur Verfügung gestellt.

Digitized by Google

Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-15 15:07 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Mit der Möglichkeit, im Tierexperiment bösartige Tumoren zu erzeugen, wurden auch die Untersuchungen über Immunisierungsvorgänge beim Krebs wieder neu aufgenommen und traten in ein Stadium, das mehr Erfolge als bisher versprach.

Schon lange waren beim Menschen Immunisierungsversuche gegen maligne Geschwülste mit spezifischen und nicht-spezifischen Stoffen gemacht worden (eine Zusammenfassung s. bei Koenigsfeld), Versuche, die meistens der Kritik einer Nachprüfung nicht standgehalten haben, und deren theoretische Grundlagen auch manchmal recht eigenartig sind.

Anders verhält es sich mit den Immunisierungen im exakten Tierversuch. Im einzelnen darauf einzugehen, erübrigt sich an dieser Stelle, da eine Anzahl ausführlicher Zusammenstellungen über diese Frage bestehen. Nur kurz sei darüber berichtet.

Schon in seinen ersten Veröffentlichungen tritt Jensen der Frage einer Immunisierung näher. Er behandelt Kaninchen mit steigenden Mengen zerstoßener Krebsmassen vor und will mit dem Serum dieser Tiere eine heilende Wirkung bei kleineren Mäusecarcinomen gesehen haben, während bei größeren Tumoren rascher Zerfall und tödliche Kachexie auftraten. Normales Kaninchenserum war ohne Wirkung. Jensen schließt daraus, allerdings mit großer Zurückhaltung, daß es sich um eine spezifische Serumwirkung gehandelt habe.

Schon vorher konnten v. Leyden und Blumenthal ähnliches beobachten. Sie behandelten Kaninchen subkutan mit Brei von Hundecarcinomen vor und injizierten das Serum dieser Kaninchen einem Hund mit einem malignen Tumor. Nach wochenlanger Behandlung trat Erweichung, Verflüssigung und schließlich Resorption der Geschwulst ein.

Von den verschiedensten Seiten wurde dann immer wieder versucht, eine passive Immunisierung gegen Geschwülste zu erreichen. Wie aber auch die Technik zur Gewinnung eines Serums variiert wurde, was für Material und für Tierarten man zur Vorbehandlung nehmen mochte — einwandfreie und dauernde Erfolge wurden eigentlich nie, weder mit prophylaktischer, noch mit therapeutischer Behandlung, erzielt. Ja, einige Autoren glauben sogar, nach Serumbehandlung nicht einen Schutz, sondern eine Ueberempfindlichkeit gegen eine nachfolgende Tumorimpfung feststellen zu müssen.

Greifbarere Resultate haben die Bemühungen um eine aktive Immunisierung geliefert. Zuerst versuchten v. Leyden und Blumenthal, einen an Carcinom leidenden Hund mit zerriebenem Tumormaterial zu behandeln. Das Carcinom bildete sich vollkommen zurück.

Schon Jensen hatte festgestellt, daß sich Mäuse, bei denen einmal eine Impfung versagt hatte, auch bei späteren Impfungen oft als immun erwiesen. Mit aller Vorsicht und Zurückhaltung zog deshalb Jensen das Bestehen einer aktiven, künstlich erworbenen Immunität in Frage.

Gaylord, Clowes und Baeslack beobachteten Spontanheilungen durch Transplantation erzeugter Tumoren. Tiere, bei denen sich so ein Impftumor resorbiert hatte, ließen bei einer zweiten Impfung gewöhnlich auch nicht einmal mehr einen Ansatz zur Geschwulstbildung erkennen.

Einen großen weiteren Fortschritt verdanken wir den Untersuchungen Ehrlichs, der die in der Bakteriologie üblichen Methoden auf die Geschwulstforschung übertrug, indem er die Geschwulstzellen wie parasitäre Gebilde betrachtete. Ehrlich ging von dem Gedanken aus, daß alle Mäusecarcinome eine einheitliche Gruppe darstellen, deren Glieder sich durch verschiedene Wachstumsenergie und Transplantationsfähigkeit unterscheiden und sich so mit Bakterienstämmen von verschiedener Virulenz

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:07 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

vergleichen lassen. Dementsprechend versuchte er eine Immunisierung gegen hochvirulentes Tumormaterial dadurch, daß er mit wenig virulentem, meistens mit hämorrhagischem Tumor vorimpfte. Und tatsächlich gelang es ihm, durch eine einmalige erfolglose Impfung mit solchen Carcinomen in 50—80 Proz. der Fälle eine vollkommene Immunität gegen eine spätere Impfung mit Tumoren von außerordentlicher Proliferationskraft zu erzielen. Durch wiederholte Vorimpfungen kann diese Immunität gesteigert werden. Sie tritt 7—14 Tage nach der Impfung ein und hält einige Wochen bis etwa 2 Monate an. Gleichzeitig konnte Ehrlich eine gewisse Panimmunität beobachten. Vorbehandlung mit einer Tumorart schützt auch gegen Nachimpfung mit einem anderen Tumor, so z. B. ein hämorrhagisches Carcinom gegen ein Chondrom. Freilich ist hier die erzielte Immunität schwächer. Die Vorbehandlung muß häufig bis 8mal wiederholt werden; nur ein kleiner Teil der vorbehandelten Tiere ist immun, und die gesteigerte Resistenz äußert sich zuweilen nur in einer verlängerten Latenzperiode zwischen Impfung und wahrnehmbarer Tumorbildung.

Diese Versuche von Ehrlich wurden vielfach bestätigt. Bald ging man aber daran, zu untersuchen, ob es sich hier tatsächlich um eine spezifische „Immunität" handele oder ob man nicht durch Vorbehandlung mit normalen Geweben dieselben Erfolge erzielen könne wie mit Tumorgewebe. Und es gelang auch sehr vielen Forschern, mit dem verschiedensten lebenden Zellmaterial, wie Embryonenbrei, Mammagewebe, Leberzellen, Blutkörperchen, Milzgewebe, Gehirn, Hoden usw. bei vorbehandelten Tieren eine mehr oder weniger ausgesprochene Immunität gegen eine nachfolgende Tumorimpfung zu erzeugen. Freilich waren hier die Erfolge nicht so groß wie nach Vorbehandlung mit avirulentem Tumormaterial. Einige Beispiele seien dafür angeführt. So zeigten in Versuchen von Bashford Mäuse, die mit 0,3—0,5 ccm Mäuseblut vorbehandelt waren, 7—10 Tage nach der Impfung in 25 Proz. Tumorentwicklung gegen 68 Proz. bei den Kontrolltieren. Lewin beobachtete bei dem Jensenschen Rattensarkom nach Vorbehandlung mit 0,8 bis 1,0 ccm Rattenblut ein verspätetes Angehen der Tumoren in 35 Proz. Bei Vorbehandlung von Mäusen mit Rattencarcinom sah Lewin bei Nachimpfung mit Mäusecarcinom 10—14 Tage nach der Vorbehandlung ein Angehen der Tumoren in 25—30 Proz. gegen 60 Proz. der Kontrolltiere. Wurden umgekehrt Ratten mit Mäusecarcinom vorbehandelt und mit Rattencarcinom nachgeimpft, so zeigten z. B. ein Mal von 22 vorbehandelten Tieren 10 Tumorentwicklung = 45 Proz., während unter 14 Kontrolltieren 10 Tumoren = 71 Proz. angegangen waren.

Schöne behandelte u. a. mit Brei aus Mäuseembryonen, Mäuseleber und Mäusehoden vor. Die Tiere erhielten bis 8 Injektionen in Abständen bis zu 23 Tagen. Die Resultate sind am besten mit Embryonenbehandlung: von 31 vorbehandelten Tieren bilden 14 Tumoren, von 46 Kontrollen 41 Tumoren. Bei Mäuseleberbehandlung gehen von 7 Tieren bei 5 die Tumoren an (in den Kontrollen gehen von 28 Tieren 26 an), bei Mäusehoden von 9 vorbehandelten Tieren bei 6 Tumoren (bei den Kontrollen gehen von 29 Tumoren 24 an). Oft war das Wachstum bei den vorbehandelten Tieren verzögert gegenüber den Kontrollen. Die Reihen sind recht klein, so daß man keine großen Schlüsse daraus ziehen kann. Aehnliche Resultate erhielt L. Michaelis bei Vorbehandlung mit Mäuseleberbrei.

Auch der nach Vorbehandlung mit normalen Geweben erzielte Schutz ist zeitlich begrenzt. Nach Woglom erreicht er sein Maximum

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:07 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

ungefähr am 10. Tage und vermindert sich dann langsam, um nach ca. 80 Tagen völlig zu verschwinden.

Es zeigte sich, daß am besten Zellen der eigenen Species wirken, wenn es auch einige Male gelungen ist, auch mit normalem oder Tumorgewebe einer fremden Species ähnliche Resultate zu erreichen.

Aus all diesen Versuchen wurde daher der Schluß gezogen, daß es sich bei diesen Erscheinungen nicht um eine aktive Immunisierung, sondern um eine unspezifische „Resistenzsteigerung" handelt — ein allerdings vorläufig noch recht vager Begriff, wenn auch verschiedene Erklärungsversuche unternommen wurden.

Es ist bisher, wenigstens bei Mäusetumoren, noch nicht einwandsfrei gelungen, eine derartig durch Vorbehandlung mit lebendem Zellmaterial hervorgerufene „Immunität" passiv zu übertragen. Trotzdem möchte ich, wenigstens für die Vorbehandlung mit Tumormaterial, glauben, daß die Wirkung auf einer echten Antikörperbildung beruht. Wie schon Schöne hervorhebt, ist ja die Maus wegen ihrer Kleinheit zu Serumversuchen wenig geeignet. Dagegen ist es bei Kaninchen v. Dungern gelungen, passiv die Immunität gegen ein Hasensarkom zu übertragen. Er nahm das Serum von Kaninchen, bei denen ein Hasensarkom zunächst gut angegangen war, dann sich aber resorbiert hatte, und spritzte dieses Serum neuen Kaninchen ein. Gleichzeitig oder einen Tag später impfte er diese Tiere mit dem Tumor nach. Das Resultat war, daß bei den 7 vorbehandelten Kaninchen der Tumor nicht anging, während von 9 Kontrolltieren 6 ein positives Resultat ergaben.

Voraussichtlich wird sich die Frage der Immunisierung erst endgültig entscheiden lassen — ähnlich wie viele Fragen der Chemotherapie — wenn wir über eine transplantable, hochvirulente Geschwulst für größere Tiere, als es Ratten und Mäuse sind, verfügen werden.

Da die Resultate der Immunisierung mit lebendem Zellmaterial kaum auf die menschliche Pathologie übertragbar waren, suchte man bald nach Methoden einer aktiven Immunisierung mit Tumormaterial, das auf irgendeine Weise seiner Lebensfähigkeit beraubt war. Man verfolgte mit dem Tumor die gleichen Wege, die die Bakteriologie bei der Immuniserung gegen Bakterien erfolgreich ging. Tumorgewebe wurde bei verschiedenen Temperaturen erhitzt oder bei sehr niederen Temperaturen (bis $-80°$) gehalten, oder man suchte es durch Zusatz von chemischen Mitteln wie Karbol, Chloroform usw. abzutöten, es wurde mechanisch zerkleinert, so daß keine intakten Zellen mehr übrig blieben, oder Tumorpreßsaft oder Tumorextrakte mit den verschiedensten Medien wurden zur Vorbehandlung benutzt. Niemals aber gelang es einwandsfrei, auf diese Weise einen nur einigermaßen deutlichen Schutz gegen eine nachfolgende Tumorimpfung zu erzielen, weder im Tierversuch noch in den Fällen, in denen man die Methode therapeutisch bei menschlichen Tumoren anwandte. (Die Beobachtungen über Krebsvaccinationstherapie beim Menschen sind in jüngster Zeit von F. Blumenthal zusammengestellt.) Nur ganz vereinzelt, besonders bei der Behandlung von Sarkomen des Menschen, sind günstigere Resultate erzielt worden. Das gilt auch für die Behandlung mit Tumorautolysaten, die therapeutisch bisher noch die relativ besten Erfolge aufzuweisen scheint. Freilich darf man es nicht auf Rechnung einer aktiven Immunisierung durch Vaccination setzen, wie es manchmal geschieht, wenn mit Sicherheit erwartete Rezidive oder Metastasen nicht aufgetreten sind. Denn gerade in bezug auf Rezidive oder Metastasen sollte man nie eine Prognose stellen. Wie oft kommt es vor, daß ein weit im Gesunden operierter

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:07 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Krebs bald rezidiviert, während ein anderer Fall, bei dem bewußt aus technischen Gründen Krebsmassen im Körper zurückgelassen werden mußten, zum Erstaunen des Operateurs nach der Operation ausheilt. Hier würden nur sehr große Reihen ein Urteil über die Brauchbarkeit einer Behandlungsmethode gestatten — und diese Reihen fehlen noch. Eine Immunität gegen eine nachfolgende Tumorimpfung durch Vorbehandlung mit Autolysaten zu erzeugen, ist Lewin nicht geglückt, während er die therapeutische Beeinflussung von Tumoren durch Autolysate bestätigt hat.

Wenn man von den vereinzelten und häufig sich widersprechenden therapeutischen Erfolgen im Tier- und Menschenversuch absieht, muß also festgestellt werden, daß es bisher noch nie mit einiger Regelmäßigkeit gelungen ist, eine Immunisierung gegen bösartige Geschwülste durch Vorbehandlung mit abgetötetem Tumormaterial, gleichgültig, ob dieses chemisch, thermisch oder mechanisch zerstört wurde, hervorzurufen. Ja, es wurde sogar einige Male beobachtet, daß nach Vorbehandlung mit abgetötetem Tumormaterial, eine nachfolgende Impfung eine größere Ausbeute als die Kontrollen ergab, daß also durch die Vorbehandlung nicht nur kein Schutz, sondern sogar im Gegenteil eine Resistenzverminderung erreicht wurde. Besonders Haaland hebt das hervor und betont, daß selbst enorme Mengen von totem Material keine Resistenz gegen eine nachfolgende Tumorimplantation erzeugen, während schon minimale Mengen lebenden Materials eine solche Wirkung entfalten. Seiner Meinung nach müssen die Zellen sogar nicht bloß nach der Verimpfung am Leben bleiben, sondern auch eine gewisse Zeitlang wachsen. Sonst tritt der immunisierende Effekt nicht ein.

Doch wenn bisher durch abgetötete Zellen nicht einmal eine geringe Immunität mit einiger Sicherheit erhalten werden konnte, so könnte das wohl darin seinen Grund haben, daß die angewandten Methoden der Abtötung zu eingreifend sind, und daher wahrscheinlich auch die in den Tumoren enthaltenen Stoffe, die als Antigen wirken könnten, mit zerstören, und ferner darin, daß die Vorbehandlung nicht intensiv genug durchgeführt wurde. Es galt daher, ein Verfahren zu finden, das auf möglichst schonende Art und Weise die Geschwulstzellen ihrer Wachstumsfähigkeit beraubt, und die Behandlung mit einem derartig gewonnenen Impfstoff systematisch und intensiv durchzuführen.

Als geeignet hierzu erschien mir die Methode, die in Pohls Laboratorium zur Gewinnung von Organpulvern ausgearbeitet worden ist. Ganz entsprechend den Angaben von Pohl und Wiechowski wurden die Tumoren unter sterilen Kautelen nach der Entnahme auf einer Glasplatte mit einem Spatel ausgequetscht und die Platte im Vaccuumapparat oder auch bei Zimmertemperatur getrocknet. Gewöhnlich nach etwa 24 Stunden wurde dann die eingetrocknete Masse abgeschabt, und man erhielt so ein feines Pulver, das etwa den 4.—5. Teil des Gewichtes des frischen Tumors ausmachte. Dieses Tumorpulver wurde in abgewogenen Mengen mit steriler physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt und zur Vorbehandlung benutzt. So behandeltes Tumorgewebe erwies sich als nicht mehr wachstumsfähig.

Es liegen schon einige Versuche vor, mit getrocknetem Tumormaterial gegen Tumoren zu immunisieren; doch wurde die Trocknung nicht schonend genug vorgenommen, oder die Behandlung nicht intensiv und lange genug durchgeführt.

Generated on 2019-09-15 15:07 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

So hat Bridré Tumoren über Schwefelsäure getrocknet, im Eisschrank aufgehoben und nach 1—2 Monaten zerrieben und in Kochsalzlösung aufgeschwemmt. Er machte nur einen Versuch der Vorbehandlung mit diesem Material und erhielt eine gewisse Immunität gegen eine nachfolgende Impfung mit einem allerdings nicht sehr virulenten Tumor.

Ferner haben Uhlenhuth, Haendel und Steffenhagen Rattentumoren zerkleinert, in Petri-Schalen ausgebreitet, im Brutschrank bei 37° C 2—3 Tage lang getrocknet und dann im Mörser zu einem Pulver verrieben. Kochsalzaufschwemmungen dieses Pulvers wurden Ratten intravenös in die Schwanzvene eingespritzt. Dabei gingen die Tiere ausnahmslos in ganz kurzer Zeit unter den Erscheinungen von Krämpfen und starker Dyspnoe zugrunde. Um den Impfstoff ungiftig zu machen, wurden dann die Pulververreibungen durch Berkefeld-Filter filtriert. Die intravenöse Injektion derartiger Filtrate hatte aber keinen schützenden Effekt.

Loeffler benutzte als Antigen zur Gewinnung eines passiv immunisierenden Serums, entsprechend seinen Versuchen mit Bakterien, Carcinomgewebe, das zerkleinert, getrocknet und trocken bis zur Keimfreiheit erhitzt wurde. Mit diesem Material behandelte er Esel vor und erhielt Sera, die Krebsextrakte noch bei 1:100 präzipitierten. Bei einem inoperablen Mammacarcinom machte Loeffler auch therapeutische Versuche mit seinem Serum. Nach jeder in die Nähe des Tumors gemachten Injektion sah er lebhafte örtliche und allgemeine Reaktion, welche von einem Verschwinden der überaus heftigen Schmerzen für einige Tage gefolgt war. Auch hob sich sichtlich das Allgemeinbefinden, ohne daß indessen der Prozeß selbst zum Rückgang gebracht worden wäre.

Meine Versuche gestalteten sich folgendermaßen:

Versuch I.

Maus 341—365, erhalten am:

22. Aug.	12.	0,002 g	Tumorpulver	III a	intraperitoneal		
26.	„	„	0,003	„	„	„	„
30.	„	„	0,004	„	„	„	„
3. Sept.	„	0,006	„	„	„	„	
7.	„	„	0,009	„	„	„	„
10.	„	„	0,013	„	„	„	„
13.	„	„	0,019	„	„	„	„
16.	„	„	0,026	„	„	„	„

15 Tiere starben während der Vorbehandlung interkurrent. Durch Sektion dieser, wie auch der interkurrent gestorbenen Tiere der anderen Versuchsreihen konnte ich mich überzeugen, daß das zur Injektion benutzte Material tatsächlich abgetötet war. Niemals war eine Tumorentwickelung infolge der Injektionen aufgetreten.

Am 23. Sept. 12 wurde ein 14 Tage alter Tumor III a im Gewichte von 1,9 g mit 9 ccm physiologischer Kochsalzlösung emulgiert und den überlebenden 10 Tieren je $^1/_4$ ccm subkutan in die rechte Flanke gespritzt; dieselbe Menge erhielten zur Kontrolle die nicht vorbehandelten Mäuse 386—405.

Die Resultate sind folgende:

Behandelte Tiere.

25. Sept. 12. 1 Maus gestorben, kein Tumor.
29. Sept. 12. 1 Maus gestorben, kein Tumor.
30. Sept. 12. 1 Maus gestorben, kein Tumor.
5. Okt. 12. 2 Mäuse gestorben, keine Tumoren.
7. Okt. 12. Bei den vorbehandelten Mäusen nirgends Tumoren.
9. Okt. 12. Von den noch lebenden 5 Mäusen weist eine einen etwa pfefferkorngroßen, eine einen etwa linsengroßen Tumor auf. Die anderen 3 Mäuse sind tumorfrei.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:07 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

12. Okt. 12. 2 tumorfreie Mäuse gestorben; Maus mit dem pfefferkorngroßen Tumor gestorben, Tumor völlig vereitert.
14. Okt. 12. Maus mit dem etwa linsengroßen Tumor gestorben. Der Tumor ist seit dem 9. Okt. nicht mehr gewachsen.
15. Okt. 12. 1 Maus mit einem etwa linsengroßen Tumor gestorben, der erst seit etwa 3 Tagen zu fühlen ist.

Kontrolltiere.

7. Okt. 12. Alle Tumoren sind angegangen und haben Bohnen- bis Kirschgröße erreicht.
11. Okt. 12. Die Tumoren sind mindestens kirschgroß, einige größer.
15. Okt. 12. Tumoren kleinpflaumengroß.
20. Okt. 12. 3 Tumoren doppelt pflaumengroß, die anderen sämtlich etwa pflaumengroß.

Versuch II.

Es wurde diesmal zur Vorbehandlung ein anderer Tumorstamm, Tumor V, benutzt, gleich mit großen Dosen angefangen und nur 4mal vorbehandelt.

Maus 1021—1060 erhalten am:

26. Febr.	13.	0,010	g	Tumorpulver	V	intraperitoneal
1. März	„	0,016	„	„	„	„
4. „	„	0,025	„	„	„	„
8. „	„	0,035	„	„	„	„

27 Tiere starben interkurrent während der Vorbehandlung. Am 18. März 13 wurde ein 26 Tage alter Tumor V im Gewichte von 3,0 g mit 11 ccm physiologischer Kochsalzlösung emulgiert und den überlebenden 13 Tieren je $^1/_4$ ccm subkutan in die rechte Flanke gespritzt; dieselbe Menge erhielten zur Kontrolle die nicht vorbehandelten Mäuse 1131—1150.

Die Resultate sind folgende:

Behandelte Tiere.

2 Mäuse starben unmittelbar nach der Impfung.
20. März 13. 2 Mäuse gestorben.
26. März 13. 4 Mäuse gestorben, kein Tumor.
27. März 13. 1 Maus gestorben, kein Tumor.
31. März 13. 1 Maus gestorben, kein Tumor.
31. März 13. 1 Maus mit einem etwa pfefferkorngroßen Tumor gestorben, 1 Maus mit einem etwa linsengroßen Tumor gestorben.
16. April 13. 1 Maus gestorben, kein Tumor.

Kontrolltiere.

26. März 13. Bei 18 Mäusen Tumoren von etwa Erbsengröße zu fühlen, 2 Mäuse noch tumorfrei.
31. März 13. Alle Tumoren angegangen: bohnen- bis kleinpflaumengroß. Auch bei den 2 bisher tumorfreien Mäusen jetzt beginnende Tumorentwickelung.

Versuch III.

Es wurde noch ein zweites Mal der Tumor V zur Vorbehandlung verwandt und diesmal mittlere Dosen gespritzt.

Maus 1331—1380 erhalten am:

18. April	13.	0,005	g	Tumorpulver	V	intraperitoneal
22. „	„	0,008	„	„	„	„
28. „	„	0,011	„	„	„	„
3. Mai	„	0,016	„	„	„	„
7. „	„	0,023	„	„	„	„
10. „	„	0,035	„	„	„	„

Interkurrent starben während der Vorbehandlung 12 Tiere. Am 20. Mai 13 wurde ein 39 Tage alter Tumor V im Gewichte von 10,0 g mit 25 ccm physiologischer Kochsalzlösung emulgiert und den überlebenden 38 Tieren je $^1/_4$ ccm der Emulsion subkutan in die rechte Flanke injiziert; die gleiche Menge erhielten zur Kontrolle die nicht vorbehandelten Mäuse 1497—1526.

Die Resultate sind folgende:

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:07 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Behandelte Tiere.

In den ersten Tagen nach der Tumorimpfung starben 5 Tiere.

28. Mai 13. 1 Maus mit einem etwa pfefferkorngroßen Tumor gestorben.

29. Mai 13. 1 Maus mit einem etwa pfefferkorngroßen Tumor gestorben.

31. Mai 13. 1 Maus gestorben, tumorfrei.

2. Juni 13. 3 Mäuse gestorben, tumorfrei. Von den anderen Tieren sind 7 Mäuse tumorfrei, 8 haben höchstens etwa pfefferkorngroße Tumoren, 10 etwa erbsengroße Tumoren und 5 etwa kirschgroße Tumoren.

4. Juni 13. 1 Maus mit einem 2 stecknadelkopfgroßen Tumor und Lungenmetastasen gestorben; 1 Maus mit 2 Tumoren gestorben, von denen einer etwa pfefferkorngroß, der andere etwa erbsengroß ist.

5. Juni 13. 1 Maus mit einem etwa pfefferkorngroßen Tumor gestorben.

6. Juni 13. 1 Maus mit einem kleinkirschengroßen Tumor gestorben; 1 Maus mit einem etwa erbsengroßen Tumor und Lungenmetastasen gestorben.

10. Juni 13. Dauernd tumorfrei 2 Tiere; bei den anderen jetzt kirschen- bis kleinpflaumengroße Tumoren, alle jedoch kleiner als die Kontrollen.

2. Jan. 14. 1 Maus gestorben, tumorfrei.

21. Jan. 14. 1 Maus gestorben, tumorfrei.

Kontrolltiere.

28. Mai 13. 1 Maus mit einem über erbsengroßen Tumor gestorben.

31. Mai 13. 1 Maus mit einem erbsengroßen Tumor gestorben.

1. Juni 13. 2 Mäuse mit etwa bohnengroßen Tumoren gestorben.

2. Juni 13. 1 Maus mit einem etwa bohnengroßen Tumor und Peritoneal- und Lungenmetastasen gestorben. Auch bei den anderen noch lebenden 25 Tieren sind die Tumoren sämtlich gut angegangen: 2 Tumoren sind etwa bohnengroß, 6 Tumoren etwa kirschgroß, 4 Tumoren über kirschgroß, die anderen 13 Tumoren pflaumengroß.

10. Juni 13. Die 18 noch lebenden Tiere haben Tumoren von mehr als Pflaumen- bis Kleinapfelgröße.

Durchschnittliche Lebensdauer der vorbehandelten Tiere vom Tage der Tumorimpfung an 35,2 Tage; durchschnittliche Lebensdauer der Kontrolltiere 26,8 Tage.

Versuch IV.

Es wurde noch einmal an einer großen Reihe ein Versuch mit Tumorpulver IIIa angestellt und längere Zwischenpausen zwischen die einzelnen Impfungen eingeschaltet, um das interkurrente Sterben der Tiere möglichst einzuschränken.

Maus 2087—2136 erhalten am:

27. Sept. 13.	0,002 g	Tumorpulver	IIIa	intraperitoneal	
1. Okt. „	0,003 „	„	„	„	
8. „ „	0,005 „	„	„	„	
13. „ „	0,008 „	„	„	„	
17. „ „	0,012 „	„	„	„	
24. „ „	0,018 „	„	„	„	
1. Nov. „	0,025 „	„	„	subkutan	
8. „ „	0,035 „	„	„	„	

Interkurrent starben 2 Mäuse.

Am 18. Nov. 13 wurde ein 29 Tage alter Tumor IIIa im Gewichte von 7,0 g mit 17,5 ccm physiologischer Kochsalzlösung emulgiert und den überlebenden 48 Mäusen je $^1/_4$ ccm der Emulsion subkutan in die rechte Flanke injiziert; die gleiche Menge erhielten zur Kontrolle die nicht vorbehandelten Mäuse 2363—2372. 2 vorbehandelte Mäuse starben 2 resp. 3 Tage nach der Impfung.

Die Resultate sind aus den beigegebenen Abbildungen zu ersehen.

1 Woche nach der Tumorimpfung, am 25. Nov., sind bei den 10 Kontrolltieren überall = 100 Proz. erbsen- bis bohnengroße Tumoren vorhanden. Von den 46 vorbehandelten Tieren sind 18 = 39 Proz. tumorfrei, bei 10 Tieren ist nur eine Spur von Tumorentwickelung zu fühlen, bei 8 Tieren sind etwa pfefferkorngroße, bei 4 Tieren erbsengroße und bei 6 Tieren etwa bohnengroße Tumoren vorhanden.

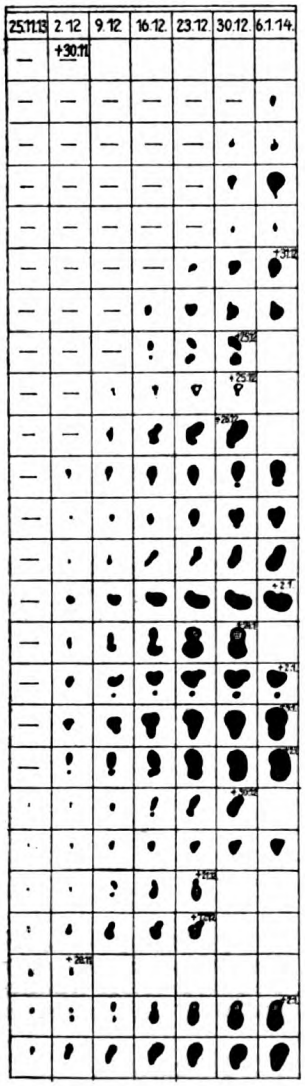
2 Wochen nach der Tumorimpfung, am 2. Dez., haben die Kontrolltiere pflaumen- und über pflaumengroße Tumoren. Von den vorbehandelten Tieren sind 9 = 20 Proz. noch tumorfrei (1 Tier war tumorfrei am 30. Nov. gestorben), bei 6 Tieren ist nur eine Spur von Tumorentwickelung zu fühlen, 5 Tiere haben etwa erbsengroße, 3 Tiere bohnengroße, 19 Tiere etwa kirschgroße und 3 Tiere über kirschgroße Tumoren.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:07 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

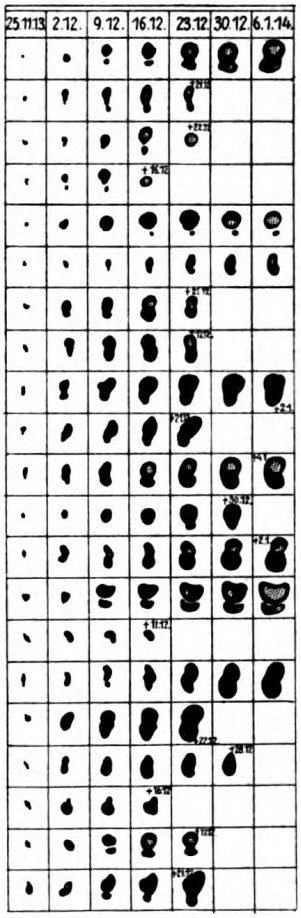
3 Wochen nach der Tumorimpfung, am 9. Dez., sind die Kontrolltumoren etwa 2 pflaumen- bis kleinapfelgroß. Von den vorbehandelten Tieren sind 7 = 15 Proz. noch tumorfrei, 7 haben erbsen- bis bohnengroße Tumoren, die anderen kirsch- und pflaumengroße Tumoren.

4 Wochen nach der Tumorimpfung, am 16. Dez., leben noch 7 Kontrolltiere und 41 vorbehandelte Tiere. 5 vorbehandelte Tiere sind immer noch tumorfrei, 6 weisen erst etwa erbsengroße Tumoren auf.

Versuch IV.
Vorbehandelte Tiere.
Tumorimpfung am 18. 11. 13.

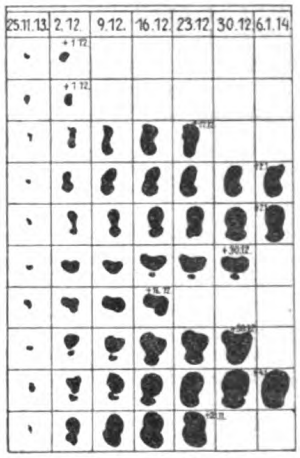


Ca. $^1/_{10}$ nat. Größe.



Ca. $^1/_{10}$ nat. Größe.

Versuch IV.
Kontrolltiere.
Tumorimpfung am 18. 11. 13.



Ca. $^1/_{10}$ nat. Größe.

5 Wochen nach der Tumorimpfung, am 23. Dez., leben noch 5 Kontrolltiere und 31 vorbehandelte Tiere. Tumorfrei sind noch 4 vorbehandelte Tiere.

6 Wochen nach der Tumorimpfung, am 30. Dez., leben noch 3 Kontrolltiere und 24 vorbehandelte Tiere. Nur 1 vorbehandeltes Tier ist noch tumorfrei, 2 vorbehandelte Tiere haben etwa erbsengroße und 3 etwa bohnengroße Tumoren. Die anderen Tumoren sind kleinpflaumengroß und etwas größer, bleiben aber immer noch im Wachstum gegenüber den riesig gewachsenen Kontrolltumoren zurück.

Am 4. Jan. 14 stirbt das letzte Kontrolltier, während von den vorbehandelten Mäusen noch 15 am Leben sind.

8 Wochen nach der Tumorimpfung, am 13. Jan. 14, leben noch 9 vorbehandelte Tiere.

Die durchschnittliche Lebensdauer der Kontrolltiere vom Tage der Tumorimpfung an betrug 33,2 Tage, der vorbehandelten Tiere 49,0 Tage.

Bei den vorbehandelten Tieren zeigten sich, wie auch schon in den früheren Versuchen, öfter Rückbildungen der Tumoren in Form von ausgedehnten Nekrotisierungen und Abstoßungen großer Partieen, während bei den Kontrolltieren niemals oder nur höchst selten etwas Derartiges zu beobachten war.

Es ist also tatsächlich gelungen, durch intensive Vorbehandlung mit Tumortrockenpulver in steigenden

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:07 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Mengen bei Mäusen fast stets und einwandsfrei einen Schutz gegen eine nachfolgende Impfung mit einem vollvirulenten Tumor hervorzurufen, einen Schutz, der sich fast stets über mehrere Wochen erstreckte, wenn ein Tumor überhaupt zur Entwickelung kam, der aber zum mindesten die Tumoren in ihrer Entwickelung gegenüber den Kontrollen erheblich hemmte, die Lebensdauer der geimpften Tiere beträchtlich verlängerte und oft eine Rückbildung schon angegangener Tumoren zur Folge hatte. In diesen Versuchen ist es also das erste Mal gelungen, durch Vorbehandlung mit **abgetötetem** Tumormaterial eine Immunisierung hervorzurufen.

Vielleicht wird es möglich sein, in Zukunft die Technik der Gewinnung des Impfstoffes noch zu vervollkommnen und die Behandlung noch intensiver zu gestalten, so daß ein noch größerer Schutz zu erwarten ist.

Es erhob sich nun die Frage, worauf dieser Schutz beruht. Handelt es sich um echte spezifische Antikörperbildung, die durch die Vorbehandlung hervorgerufen wird, oder um eine unspezifische „Resistenzsteigerung", wie man sie z. B. auch durch Vorbehandlung mit normalem lebenden Gewebe hervorrufen kann? Ich verfüge bisher nur über eine Versuchsreihe, die vielleicht geeignet ist, einiges zu erklären.

Ich versuchte festzustellen, ob man mit getrocknetem normalen Gewebe die gleichen Resultate wie mit getrocknetem Tumor erhält.

Versuch V.

Serie A. Maus 558—587 erhalten am:

21. Nov. 12.	0,002 g	Tumorpulver IIIa	intraperitoneal		
23. „ „	0,004 „	„	„	„	
26. „ „	0,007 „	„	„	„	
29. „ „	0.012 „	„	„	„	
3. Dez. „	0,020 „	„	„	„	
6. „ „	0,039 „	„	„	„	

Serie B. Maus 508—527 erhalten am:

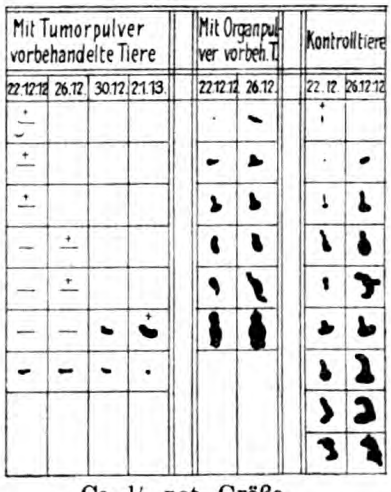
21. Nov. 12. 0,002 g Pulver aus getrockneter normaler Leber, Milz u. Niere v. Mäusen intraperitoneal
23. „ „ 0,004 „ dgl.
26. „ „ 0,007 „ dgl.
29. „ „ 0,012 „ dgl.
3. Dez. „ 0,020 „ dgl.
6. „ „ 0,039 „ dgl.

Am 16. Dez. wird ein 24 Tage alter Tumor IIIa im Gewichte von 5,0 g mit 12,5 ccm physiologischer Kochsalzlösung emulgiert und den überlebenden Tieren aus beiden Serien je $^1/_4$ ccm der Emulsion subkutan in die rechte Flanke injiziert; die gleiche Menge erhalten die nicht vorbehandelten Mäuse 693—712 zur Kontrolle (Serie C).

Während der Vorbehandlung starben interkurrent aus Serie A 17 Tiere, an den ersten 2 Tagen nach der Tumorimpfung weitere 6 Tiere, aus Serie B während der Vorbehandlung 8 Tiere, an den ersten 2 Tagen nach der Tumorimpfung 6 Tiere. Von den Kontrollen, Serie C, starben in den ersten 3 Tagen 11 Tiere.

Der weitere Verlauf des Versuches geht aus den beigegebenen Abbildungen hervor. Es ist deutlich zu ersehen, daß nach Vorbehandlung mit normalen Organen nicht die

Versuch V.
Tumorimpfung am 16. 12. 12.



Ca. $^1/_5$ nat. Größe.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:07 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Spur eines Schutzes auftritt, ja, es scheint sogar im Gegenteil eher eine Beschleunigung des Wachstums vorzuliegen.

Aus diesem Befunde geht mit ziemlicher Sicherheit hervor, daß der Schutz, den man mit Vorbehandlung durch Tumorpulver erreicht, ein spezifischer ist. Wahrscheinlich handelt es sich um echte Antikörperbildung, wenn wir die Antikörper auch freilich bisher mit Sicherheit noch nicht nachweisen konnten. Ich möchte daher auch glauben, wie schon oben erwähnt, daß es nicht berechtigt ist, wie es fast allgemein geschieht, den Schutz, den man durch Vorbehandlung mit lebendem Tumorgewebe erzielt, völlig gleichzusetzen dem nach Vorbehandlung mit normalem lebenden Gewebe und nur quantitative Unterschiede anzunehmen. Wahrscheinlich liegen qualitative Unterschiede vor, woran auch schon Schöne denkt, und es tritt auf Injektion von lebendem Tumorgewebe Antikörperbildung auf, ebenso oder vielleicht noch eher, wie ich es für die Vorbehandlung mit Tumortrockenpulver annehme. Von einigen Autoren (v. Dungern, Werner, Clowes, Sticker u. a.) wird ja auch die Bildung von Antikörpern angenommen.

Die vorstehenden Versuche, in denen entgegen den bisherigen Erfahrungen durch Vorbehandlung mit sicher abgetöteten Tumorzellen ziemlich regelmäßig ein Schutz gegen eine nachfolgende Tumorimpfung erzielt wurde, sind meines Erachtens wohl auch nicht ganz ohne praktische Bedeutung.

Während die bisherigen Immunisierungsversuche des Tierexperimentes mit lebendem Tumorgewebe oder lebenden Normalzellen kaum auf die menschliche Pathologie übertragen werden konnten, besteht wohl die Möglichkeit, eine Behandlung mit Tumortrockenpulver auch beim Menschen zu versuchen. Die Injektion des Tumortrockenpulvers bei Mäusen ist an sich völlig unschädlich. Wenn in manchen Reihen viele Tiere interkurrent gestorben sind, so mag das darin seinen Grund haben, daß 4—8 Injektionen für so zarte Tiere wie Mäuse an sich nicht indifferent sind, gleichgültig, was ihnen injiziert wird. Dazu hatten wir eine Zeitlang mit endemischen Seuchen zu kämpfen, die gleichmäßig alle unsere Versuchstiere befielen. In der Versuchsreihe IV, in der besonders vorsichtig vorgegangen, und ein besonderes Augenmerk auf die Pflege der Tiere gerichtet wurde, sind denn auch von 50 Tieren während einer 40-tägigen Vorbehandlung mit 8 Injektionen nur 2 Tiere interkurrent gestorben (1 Tier an Pneumonie, 1 Tier wurde getötet; die anderen Tiere gediehen ausgezeichnet).

Vielleicht sind von der Behandlung beim Menschen noch bessere Erfolge als im Tierversuch zu erwarten. Denn trotz aller weitgehenden Analogieen zwischen Mäuse- und Menschenkrebs haben wir es beim Mäusekrebs mit Tumoren von ganz ungeheuerer Wachstumsfähigkeit zu tun, wie sie bei menschlichen Geschwülsten nie beobachtet wird. Es wäre daher wohl möglich, daß sich mit dem gleichen Immunisierungsprinzip ein menschliches Carcinom leichter beeinflussen ließe wie ein Mäusecarcinom. Erwägungen über Unterschiede in der biochemischen Struktur der Zellen haben ja hier keine Gültigkeit. Denn man müßte natürlich menschliche Geschwülste mit Pulver behandeln, das aus menschlichen Carcinomen hergestellt ist. Ja, ich würde es sogar für zweckmäßig halten, wenn nach dem in der modernen Vaccinetherapie bakterieller Erkrankungen erfolgreich durchgeführten Prinzip jeder Kranke mit seinem eigenen durch Operation gewonnenen Tumor behandelt würde, eine individuelle Spezifität, die ja von verschiedenen Autoren

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:08 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

anscheinend mit Recht für die Vaccinationstherapie des Krebses verlangt wird. Selbstverständlich sollen die bisherigen bewährten Behandlungsmethoden durch eine derartige Immunisierung nicht ersetzt, sondern nur unterstützt werden, also die Immunisierung z. B. zur Nachbehandlung einer Operation dienen, um drohende Rezidive oder Metastasen zu bekämpfen.

Ob die hier ausgesprochenen Erwartungen sich erfüllen werden, muß die Zukunft lehren und ist Sache der Kliniker.

Die Bearbeitung einer Reihe weiterer theoretischer Fragen, die sich an meine Befunde knüpfen, hoffe ich später vornehmen zu können.

Literatur.

Blumenthal, Ferd., Der gegenwärtige Stand der Behandlung der bösartigen Geschwülste. II. Vaccinationstherapie. (Berlin. klin. Wochenschr. 1913. No. 50.)

Bridré, Recherches sur le cancer expérimental des souris. (Ann. de l'Inst. Pasteur. T. 21. 1907. p. 760.)

v. Dungern, Ueber passive Uebertragung der Immunität gegen Hasensarkom. (Zeitschr. f. Immunitätsforsch. Orig. Bd. 5. 1910. p. 695.)

Ehrlich, Experimentelle Carcinomstudien an Mäusen. (Arb. a. d. Kgl. Instit. f. exper. Therap. zu Frankfurt a. M. 1906. H. 1.)

—, Experimentelle Carcinomstudien an Mäusen. (Grenzgeb. d. Med. 14 Vortr. etc. Jena [G. Fischer] 1908.)

—, Die Genese des Carcinoms. (Verhandl. d. Deutsch. Pathol. Gesellsch. in Kiel. 12. Tag. 1908. p. 13.)

—, Beiträge zur experimentellen Pathologie und Chemotherapie. Leipzig (Akad. Verlagsges.) 1909.

Ehrlich u. Apolant, Beobachtungen über maligne Mäusetumoren. (Berlin. klin. Wochenschr. 1905. No. 28.)

— —, Ueber die Genese des Carcinoms. (Centralbl. f. allg. Pathol. u. pathol. Anat. Erg.-H. Bd. 19. p. 3.)

Gaylord, Clowes u. Baeslack, Preliminary report on the presence of an immune body in the blood of mice spontaneously recovered from cancer etc. (Med. News. 1905.)

Haaland, The contrast in the reactions to the implantation of cancer after the inoculation of living and mechanically desintegrated cells. (Lancet. 1910. Vol. I. p. 787.)

Jensen, Hospitalstidende. 1902. No. 19.

—, Experimentelle Untersuchungen über Krebs bei Mäusen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 34. 1903. p. 28.)

Koenigsfeld, Ueber Immunotherapie bei malignen Geschwülsten. (Med. Klin. 1913. No. 27.)

v. Leyden u. Blumenthal, Vorläufige Mitteilungen über einige Ergebnisse der Krebsforschung auf der ersten medizinischen Klinik. (Dtsche med. Wochenschr. 1902. p. 637.)

Loeffler, Ueber ein neues Verfahren zur Gewinnung von Antikörpern. (Dtsche med. Wochenschr. 1904. p. 1913.)

Michaelis, L., Weitere experimentelle Untersuchungen über Tierkrebs. (Deutsche med. Wochenschr. 1907. p. 826.)

Pohl, Das Arbeiten mit Organeiweiß. (Handb. d. biochem. Arbeitsmeth., Bd. 5. 1911. p. 659.)

Schöne, Untersuchungen über Carcinomimmunität bei Mäusen. (München. med. Wochenschr. 1906. p. 2517.)

—, Die Beziehungen der Immunitätsforschung zur Lehre von den Geschwülsten. (Jahresber. f. d. ges. Immunitätsforsch. 1906.)

Uhlenhuth, Haendel u. Steffenhagen, Experimentelle Untersuchungen über Rattensarkom. (Arb. a. d. Kaiserl. Gesundh.-A. Bd. 36. 1911.)

Wiechowski, Eine Methode zur chemischen und biologischen Untersuchung überlebender Organe. (Hofmeisters Beitr. Bd. 9. 1907. p. 240.)

Woglom, The duration and extent of induced resistance toward tumor transplantation in mice. (Journ. of exp. med. Vol. 16. 1912. p. 629.)

Generated on 2019-09-15 15:08 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Nachdruck verboten.

Ueber Paragglutination.

[Aus dem k. k. Serotherapeutischen Institut in Wien (Vorstand: Hofrat Prof. Dr. Paltauf).]

Von Dr. med. u. phil. **Bruno Busson.**

In der Medizinischen Klinik, Jahrgang 1909 und auf dem Mikrobiologentage desselben Jahres haben Kuhn und Woithe eine interessante Beobachtung mitgeteilt.

In einer in der Nähe Berlins gelegenen Irrenanstalt war eine Dysenterieepidemie ausgebrochen und die bakteriologische Untersuchung ergab das Vorhandensein des Bac. dysenteriae Flexner. Bei einem dieser Patienten namens Sieg wurde ein Stäbchen gefunden, das ganz dem Typus Flexner entsprach, aber verhältnismäßig nur geringe Agglutinierbarkeit gegenüber dem Immunserum aufwies, insofern als es von einem Serum mit dem Titer 1 : 20000 nur bis 2000 agglutiniert wurde. Dieser Patient wurde geheilt entlassen, kam aber nach einigen Wochen mit einem Rückfalle wieder in ärztliche Behandlung. Bei der neuerdings vorgenommenen bakteriologischen Untersuchung wurde zwar der frühere Flexner-Stamm nicht mehr gefunden, wohl aber ein Coli-Stamm, der durch sein merkwürdiges Verhalten gegenüber völlig heterologen Immunseris auffiel. Dieser Coli-Stamm wurde vom Flexner-Serum bis 20000, vom Y-Dysenterieserum bis 10000, vom Typhusserum bis 10000 und vom Paratyphus A-Serum (Titer 3000) bis 1000 und selbst von normalem Kaninchenserum bis 1 : 100 agglutiniert. Alle diese Sera waren von Kaninchen gewonnen, wogegen ein Esel-Immunserum, das Typhusbacillen bis 50000 agglutinierte, diesen Stamm nicht beeinflußte.

Außer diesem Coli-Stamm wurde auch ein aus den Dejekten desselben Patienten gezüchteter Coccobacillus vom Flexner-Serum bis 3000 agglutiniert, aber weder von Typhus- noch Paratyphus A- und B-Seren beeinflußt. Zu erwähnen wäre noch, daß weder der Coli-Stamm, noch der Coccobacillus irgendwelche Tendenz zur Spontanagglutination zeigten. Das Serum des Patienten Sieg agglutinierte Flexner- und Y-Stämme bis 1:100, den eigenen Coli-Stamm aber noch in Verdünnungen 1 : 1000.

Die mit den einzelnen Stämmen hergestellten Kaninchenimmunsera agglutinierten die verschiedenen Stämme in folgender Weise:

Immunserum mit Stamm Sieg-Flexner:	Sieg-Flexner	6000
	Sieg-Coli	3000
	Sieg-Kokken	3000
	Flexner	600
	Y	300
Immunserum mit Stamm Sieg-Coli:	Sieg-Coli	20000
	Sieg-Kokken	3000
	Sieg-Flexner	1000
	Flexner	1000
	Y	1000
Immunserum mit Stamm Sieg-Kokken:	Sieg-Kokken	6000
	Sieg-Coli	6000
	Sieg-Flexner	600
	Flexner	600
	Y	600

Im ganzen konnten Kuhn und Woithe noch 11 derartige Coli-Stämme aus den Dejekten von insgesamt 8 Irren züchten, von denen zwei niemals an Dysenterie erkrankt waren. Dabei war es aber keines-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:08 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

wegs die Regel, aus jedem der chronischen Ruhrfälle derartige Coli-Stämme zu züchten; viele ergaben nach dieser Richtung völlig negative Resultate. Die so gezüchteten Coli-Stämme verhielten sich gegenüber Flexner-Immunserum, wie folgt:

Ke III	(Titer	8000) 5000	El II	(Titer	8000) 5000
V	(„	8000) 1000	III	(„	8000) 5000
Go	(„	8000) 3000	La	(„	10000) 8000
M	(„	8000) 5000	B	(„	8000) 1000
El I	(„	8000) 5000	Kr	(„	8000) 1000

Durch den Castellanischen Versuch war es möglich, aus dem betreffenden Flexner-Immunserum in hohem Maße die Agglutinine mit diesen Coli-Stämmen zu absorbieren, so daß der Titer eines solchen Serums nach der Bindung mit diesen Coli-Stämmen von 10000 auf 3000 gesunken war.

Weiterhin war es auffallend, daß die Agglutinabilität dieser Coli-Stämme für das Flexner-Serum bei künstlicher Fortzüchtung allmählich immer mehr und mehr abnahm, bis es schließlich auf Null sank, während die gezüchteten Flexner-Stämme ihre Agglutinierbarkeit vollkommen beibehielten. So sank im Laufe von 14 Monaten die Agglutinierbarkeit der Coli-Stämme Sieg und Li von 20000 auf 1000 bzw. 300, und ebenso ging auch die Agglutinierbarkeit der Kokken zurück.

Aehnliche Beobachtungen, wie sie Kuhn und Woithe machten, und mit Recht als etwas von der häufig zur Beobachtung gelangenden Mitagglutination Verschiedenes abtrennen, liegen nur in ganz beschränktem Maße vor; so konnte Dival und Schwer beobachten, daß bei Kinderruhr sich häufig B. faecalis alcaligenes vergesellschaftet vorfindet und dann zumeist auch mitagglutiniert wird. Prigge fand einige Male bei Typhuserkrankungen für Typhusserum agglutinable Coli-Stämme vor.

Kuhn und Woithe erklären sich ihre Befunde mit der Annahme, daß den Coli-Bakterien im kranken Organismus allmählich Rezeptoren für die Agglutinine des die Krankheit verursachenden Hauptstammes angezüchtet werden, und zwar unter dem Einfluß der veränderten Körpersäfte, in denen die heterologen Bakterien im Körper des Ruhrkranken leben müssen.

Diese Erscheinung nennen Kuhn und Woithe „Paragglutination", und nach ihrer Auffassung könnte diese letzte Ursache möglicherweise darin liegen, daß „die vielleicht vorhandenen Rezeptoren infolge der Avidität der vorhandenen Agglutinine wie mit Beißzangen herausgezogen wurden", und eventuell steht auch die Frage des Pathogenwerdens gewisser Saprophyten, speziell des Bact. coli nach der Ansicht dieser Autoren mit den gefundenen Tatsachen in innigem Zusammenhang.

Während also die Mitagglutination auf der a priori bei gewissen Bakterien vorhandenen Rezeptorengemeinschaft basiert, beruht nach Kuhn und Woithe das Wesen der Paragglutination auf einer Rezeptorengemeinschaft höheren Grades für agglutinierende Immunstoffe bei Arten, die nicht nahe miteinander verwandt sind, aber unter gewissen gleichen Lebensbedingungen stehen. Diese Agglutinabilität ist verhältnismäßig rasch vergänglich im Gegensatz zu der Mitagglutination.

Die von Kuhn und Woithe erhobenen Befunde haben ganz besonderes Interesse, weil wir sie mit der Spezifität der Agglutinationsreaktion derzeit nicht in Einklang zu bringen vermögen, und es ist bislang noch ungeklärt, wie es zu eben dieser Rezeptorengleichheit bei im

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:08 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Systeme weit voneinander abstehenden Arten, wie in dem von Kuhn und Woithe beobachteten Falle kommen kann.

Daß im Sinne der Anschauungen Kuhn und Woithes dem erkrankten Organismus eine gewisse Beeinflussung auf die Begleitbakterien zukommen dürfte, dafür scheinen allerdings bis zu einem gewissen Grade die in jüngerer Zeit gemachten Beobachtungen Mandelbaums zu sprechen, welcher im Gefolge von Typhuserkrankungen aus den Stühlen hämolysierende Coli-Stämme züchten konnte, die er in den Frühstadien der Erkrankung nicht aufzufinden vermochte. Mandelbaum nimmt nun an, daß dieses hämolytische Vermögen von den Coli-Stämmen erst im Verlaufe der Erkrankung im kranken Organismus erworben wurde.

Die von Kuhn und Woithe gezüchteten Begleitbakterien zeigten nicht nur bezüglich der agglutinablen Eigenschaften ein von der Norm abweichendes Verhalten, sondern auch ihr Agglutinin bildendes Vermögen weist auf den gemeinsamen Besitz gleichartiger agglutinogener Substanz hin.

Insbesondere Kaninchen-Immunsera, die zumeist keinen höheren Gehalt an störenden Normalagglutininen aufweisen, lassen deshalb bei vergleichsweiser Gegenüberstellung der den einzelnen isohomologen Immunseris zukommenden Werte an wirksamen Mit- und Paragglutininen einen gewissen Schluß auf den jeweiligen gemeinsamen Besitz zweier Bakterienstämme einerseits an agglutininbindender, andererseits auch agglutininbildender Substanz zu. Um dies zu ermitteln, können wir bei einem Kaninchen-Immunserum die Wertigkeit des betreffenden Serums gegen den isohomologen Stamm gleich 100 setzen, und dann den Gehalt dieses Serums an wirksamen Paragglutininen für andere Stämme aus den ermittelten Werten jeweils direkt in Prozenten ausdrücken.

Tabelle
für die prozentuale Wirkung aus den drei gezüchteten Stämmen dargestellten isohomologen Immunsera auf:

	den gezüchteten Flexner-Stamm	den Coli-Stamm	den Kokken-Stamm	einen typischen Flexner-Stamm	einen Y-Stamm
I. Serum des gez. Flexner-Stammes	100 Proz.	50 Proz.	50 Proz.	10 Proz.	5 Proz.
II. Serum des Coli-Stammes	5 „	100 „	15 „	5 „	5 „
III. Serum des Kokkenstammes	10 „	100 „	100 „	10 „	10 „

Eine derartig zusammengefaßte und vorstehend wiedergegebene Zusammenstellung über die von Kuhn und Woithe beobachteten Tatsachen ergibt nun bei tabellarischer Uebersicht, daß, nach der Wirkung der jeweiligen isohomologen Immunseris zu schließen, die drei aus dem Patienten gezüchteten Stämme unter sich am meisten gemeinsame agglutininbildende und agglutininbindende Substanz aufweisen, und zwar sich in dieser Beziehung untereinander viel näher stehen als beispielsweise der aus demselben Patienten gezüchtete Flexner-Stamm mit einem typischen Flexner- oder Y-Stamm. Insbesondere erscheint es auffallend, daß das mit dem Coccus erzeugte Immunserum den Coli-Stamm in gleicher Höhe mitagglutiniert wie den Coccus selbst und umgekehrt wieder das Serum des Coli-Stammes den Coccus am stärksten mitagglutiniert.

Diese Tatsache scheint zunächst wohl für eine gemeinsame Beeinflussung des Rezeptorenapparates aller 3 Bakterienstämme durch eine gleiche gemeinsame Ursache zu sprechen, und zwar im Sinne Kuhns

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:08 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

und Woithes, insofern die Einwirkung des kranken Organismus die Rezeptoren zu einer gleichartigen Anpassung an den gemeinsamen Nährboden umstimmen würde, wobei aber angenommen werden müßte, daß dem die Krankheit verursachenden Hauptstamme eine mitbestimmte Stellung zukäme.

Es ist sicher, daß bei der von Kuhn und Woithe beobachteten Erscheinung andere Verhältnisse vorliegen als bei der sogenannten Mitagglutination. Diese letztere ist im Sinne Durhams nach Paltauf darauf zurückzuführen, daß die agglutinogene Substanz der Bakterien keine einheitliche ist, vielmehr aus zahlreichen Komponenten besteht, und wenn nur einzelne dieser Komponenten zweien auch sonst völlig differenten Bakterien gemeinsam sind, kann dies die Entstehung der Mitagglutination bedingen. Aus eben diesem Grunde ist auch nach Paltauf die Mitagglutination an sich nicht als Maßstab für den Grad verwandtschaftlicher oder phylogenetischer Zugehörigkeit zweier Arten zu verwerten, denn ihr Zustandekommen ist nicht nur abhängig von der Individualität der Bakterienstämme und ihrer agglutinablen Substanzen, sondern auch von jener desjenigen Tieres, das das Agglutinin bilden soll. Auch zeigt die kreuzweise Agglutination mit den Immunseris derartiger Stämme, daß die Mitagglutinine häufig nur am Hauptagglutinine für den einen Stamm haften, während das andere Immunserum sie oft gar nicht oder nur in geringem Grade enthält. Z. B. werden Paracoli-Bakterien aus dem Pferdedarme von Paratyphus- und Hogcholeraseris in gewissen Höhen mitagglutiniert, aber die mit ihnen hergestellten Sera vermögen weder Paratyphus- noch Schweinepestbacillen zu agglutinieren.

Zum Zustandekommen der von Kuhn und Woithe beobachteten Paragglutination scheint aber, wie schon erwähnt, eine von der Individualität des Stammes und des zur Immunisierung verwendeten Organismus unabhängige Komponente als Hauptfaktor hinzuzukommen, nämlich der kranke Organismus, der bestimmend auf die agglutinatorischen Verhältnisse mehrerer verschiedener Stämme gleichsinnig einwirkt, was darin zum Ausdrucke kommt, daß bei kreuzweiser Agglutination sich bei allen Stämmen untereinander sowohl die agglutininbildenden als auch agglutininbindenden Substanzen einheitlich und gleichsinnig geändert erweisen, so daß auch im Castellanischen Versuche durch den Coli-Stamm das Hauptagglutinin für Flexner-Bacillen in hohem Maße absorbiert werden konnte.

Mit Bezug auf vorübergehende Aenderungen in der Spezifität der Agglutination, insbesondere betreffs der Rolle, welche die Individualität der einzelnen Stämme hierbei spielt, sagt Paltauf: „Wie sich die tier- und menschenpathogenen Arten des Bacillus enteritidis und des Paratyphus B auch mit der Absorptionsmethode nicht typisch sondern lassen, so dürfte es auch in der Gruppe der giftarmen Dysenteriebacillen sein. In diesen Gruppen liegen Bakterien vor, deren agglutinable resp. agglutinogene Substanz sehr beeinflußbar ist, so sehr, daß die Aenderungen am Rezeptorenapparat unter gewissen Verhältnissen die Artspezifität verdecken; sie bleibt aber schließlich immer so weit erhalten, daß z. B. Enteritis- und Paratyphusbacillen zu trennen sind.“ Auch verweist Paltauf auf die Veränderungen, welche das agglutinatorische Verhalten der Fleischvergifter aufweist, je nachdem ob sie unter dem Einflusse des tierischen oder des menschlichen Organismus stehen. Ueberhaupt ist nach Paltauf dem Einflusse des Nährbodens unter Umständen eine bestimmende Rolle mit Bezug auf qualitative Ver-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:08 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

änderungen des agglutinatorischen Verhaltens einzelner Stämme zuzuschreiben, wobei insbesondere für vorübergehende Aenderungen der Spezifität im Sinne einer Paragglutination auch an die Möglichkeit der Adsorption löslicher Substanzen einer Bakterienart durch die andere gedacht werden könnte, ähnlich wie Typhusbacillen, die Bleinitrat adsorbiert haben, durch Schwefelwasserstoff ausgeflockt werden.

Ich habe nun auf Anregung des Herrn Hofrates Paltauf im Jahre 1912 meine Untersuchungen über die von Kuhn und Woithe gemachten Beobachtungen begonnen, konnte sie aber damals aus äußeren Gründen nicht zu Ende führen.

Da es von vornherein ziemlich ausgeschlossen erschien, der hypothetischen Auffassung Kuhns und Woithes, daß im kranken Organismus der wichtigste Faktor zum Zustandekommen der Paragglutination zu erblicken sei, eine experimentell begründete Grundlage zu geben, so habe ich versucht, auf anderen Wegen dieser Frage näherzutreten.

In dieser Beziehung schien mir zunächst die experimentelle Untersuchung einer Teilfrage, ob nämlich der die Krankheit verursachende pathogene Hauptstamm bei gemeinsamer künstlicher Züchtung zweier Arten nebeneinander direkt durch Ausscheidung von Giften oder Stoffwechselprodukten oder indirekt durch Veränderung des künstlichen Nährbodens die Rezeptorenapparate seiner Begleitbakterien zu beeinflussen vermag, mehr Aussicht auf Erfolg zu bieten.

Zu diesem Zwecke impfte ich je 1 Liter Bouillon mit den verschiedenen pathogenen Erregern der infektiösen Darmkrankheiten, ließ diese Kulturen 8—10 Tage wachsen und impfte dann in die lebenden oder durch Pasteurisieren abgetöteten Kulturen nachträglich Staphylokokken oder Coli ein. Die ersten dieser Versuche 1—15 wurden im Winter 1912 ausgeführt und unterscheiden sich von den im Herbst 1913 ausgeführten Versuchen 16—28 dadurch, daß die Kulturen der zweiten Versuchsreihe die ganze Zeit über bei 37° C gehalten wurden, während die ersteren nur im ersten Monat bei Brutschranktemperatur, dann aber bei Zimmertemperatur weitergezüchtet worden waren. Ueberdies wurde bei der zweiten Versuchsserie mit jedem der einzelnen Stämme ein isohomologes Immunserum mit Kaninchen dargestellt, um so durch kreuzweise Agglutinationen, eventuell infolge Beeinflussung der Begleitbakterien durch den Hauptstamm veranlaßten Veränderungen bezüglich der agglutininbildenden und -bindenden Substanzen feststellen zu können. Bei der ersten Versuchsreihe wurde nur mit jeweils gegen den Hauptstamm gerichteten Pferdeimmunseris agglutiniert.

Das Nebeneinanderzüchten zweier Arten begegnet naturgemäß insofern größeren Schwierigkeiten, als der stärkere Stamm den schwächeren in kürzerer Zeit überwuchert; so überwuchert beispielsweise ein Bouillonröhrchen Coli-Kultur in einen Liter 8-tägiger Typhuskultur gegossen, den Typhus meist schon in 8—14 Tagen völlig. Bei meinen Versuchen konnte in solchen Fällen, wo der Hauptstamm überwuchert wurde, insofern nachgeholfen werden, als von Zeit zu Zeit vom Hauptstamm frische Kulturen nachgeimpft wurden. Anders lagen aber jene Fälle, in denen das Begleitbakterium spontan (z. B. bei Aussaat in pasteurisierter Kultur) oder infolge Ueberwucherung durch den Hauptstamm zugrunde ging. Denn jede neue Aussaat des Begleitbakteriums würde einen frischen Beginn des Versuches bedeutet haben, insofern als wir ja die an diesem auftretenden eventuellen Veränderungen erst nach längerem gemeinsamen Züchten mit dem pathogenen Hauptstamme ermitteln wollten. Demzufolge entfielen die gemeinsamen Züchtungsversuche mit Staphylokokken

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:08 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

und pathogenen Stämmen, die Staphylokokken hielten sich nur in den pasteurisierten Kulturen der Bakterien.

Wenn wir die im nachstehenden wiedergegebenen Versuche betrachten, so ergibt sich daraus folgendes:

Die Tabellen der im Jahre 1912 ausgeführten Versuche 1—15 lassen zunächst keine auffallende Beeinflussung der beiden Begleitbakterien (Coli und Staphylokokken) in Form einer beträchtlichen Erhöhung ihrer Agglutinierbarkeit gegen das heterologe Immunserum des Hauptstammes erkennen, aber es ist in einzelnen Fällen dennoch zu einer, wenn auch geringgradigen Erhöhung der Agglutinierbarkeit gekommen. Auf diese Weise erscheint die komplette Agglutinierbarkeit des Coli-Stammes durch die fremden Sera im Versuche No. V von 50 auf 83 mit Paratyphusserum in 60 Tagen, in No. VI von 50 auf 125 mit Paratyphusserum in 46 Tagen, in No. VII von 60 auf 100 mit Shiga-Serum in 23 Tagen, in No. IX von 82 auf 125 mit Shiga-Serum in 11 Tagen und in No. XII von 100 auf 160 mit Flexner-Serum in 39 Tagen erhöht.

Dagegen war bei den in den pasteurisierten Kulturen eingeimpften Staphylokokken gar keine Beeinflussung zu sehen und die gemeinsame Züchtung erwies sich bei diesen aus den erwähnten Gründen als undurchführbar.

Bemerkenswert ist das Ergebnis des in No. 13 wiedergegebenen Versuches, wo nach einer völligen Ueberwucherung der Staphylokokken durch den Flexner-Stamm das nachträglich in diese Kultur eingeimpfte B. coli eine Erhöhung seiner Agglutinierbarkeit gegen Flexner-Serum von 100 auf 250 schon nach 25 Tagen erfuhr. In derselben Weise konnte in Versuch XIV eine Zunahme der Agglutinierbarkeit von 60 auf 120 konstatiert werden, wogegen der analoge Versuch No. XV völlig negativ verlaufen ist. Dennoch erscheinen mir diese Ergebnisse zu unausgesprochen zu sein, als daß man daraus einen weitergehenden Schluß ziehen könnte.

Dagegen verdient eine andere in Erscheinung getretene Beobachtung besonderer Beachtung, insofern als bei längerer Züchtung in den späteren Stadien dieser Versuchsreihen häufig eine ausgesprochene Steigerung in der Intensität der Agglutinationsreaktion konstatiert werden konnte; die beobachtete Paragglutination ging im Verlaufe des Versuches zeitlich rascher und vollkommener vor sich als bei den Kontrollen, die in derselben Weise weitergezüchtet, jeweils mit zum Vergleiche dienten. Ich habe diese Versuche öfter wiederholt und kann einen Irrtum sowohl bezüglich dieser Erscheinung als auch der geringen Erhöhung der Agglutinierbarkeit ausschließen.

Die Versuche 16—28 wurden im Jahre 1913 ausgeführt. Dazu muß noch erwähnt werden, daß von den pathogenen Stämmen ein isohomologes Immunserum nur von den Stammkulturen hergestellt werden konnte, weil sie während der Zusammenzüchtung mit Coli von diesem immerhin nach einiger Zeit überwuchert und deshalb öfters nachgeimpft werden mußten, wogegen die betreffenden Coli-Immunsera tatsächlich von demjenigen Stamme hergestellt werden konnten, der von einmaliger Aussaat stammend, durch 4 Monate mit dem betreffenden pathogenen Bakterium bei gemeinsamer Züchtung in Kontakt gestanden war.

Außer dieser Zusammenzüchtung von Coli mit pathogenen Darmbakterien wurde auch noch die in Tabelle 26 wiedergegebene Versuchsreihe ausgeführt, wobei in stark bewachsene, 10—14 Tage alte, einen Liter enthaltende Bouillonkulturen der pathogenen Darmbakterien Typhus,

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:08 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Paratyphus B, Shiga und Flexner je ein Bouillonröhrchen 24 Pyocyaneus-Kultur eingeimpft wurde. Der Pyocyaneus hatte schon nach wenigen Tagen in dieser Mischkultur so weit die Oberhand erhalten, daß im Plattenverfahren nur mehr diese Bakterienart allein nachweisbar war. Bei diesen Versuchen bin ich von der Vorstellung ausgegangen, daß die Verimpfung des Pyocyaneus in so stark bewachsene fremde Kulturen, die wohl die Nährsubstrate des Nährbodens schon zum allergrößten Teile verbraucht haben dürften, den Pyocyaneus zwingt, seinen Lebensunterhalt vorwiegend auf Kosten des massenhaft vorhandenen fremden Bakterieneiweißes, z. B. der Typhusbakterien, zu suchen. Da nun gerade beim Pyocyaneus die Auflösung der toten und zur Zeit der Impfung noch lebenden fremden Bakterienzellen sehr rasch fortschreitet, so dachte ich an die Möglichkeit, daß diese starke Beimengung der, wenn auch durch die Pyocyaneus-Fermente, veränderten Eiweißabbauprodukte der fremden Bakterien zum Kulturmedium eventuell von Einfluß auf das serologische Verhalten des unter solchen Bedingungen gezüchteten Pyocyaneus-Stammes werden könnte, wenn dem Nährboden als solchem eine wesentliche Bedeutung hierfür zukommt. Aber die Ergebnisse sind negativ und es war diese Möglichkeit ja immerhin auch zu erwarten, denn die auflösende Wirkung der Pyocyaneus-Fermente dürfte wohl zu intensiv und der Abbau zu tiefgreifend sein.

Die Durchsicht der Versuchstabellen 16—26 ergibt nun nach jeder Richtung hin ein negatives Resultat; nicht einmal die bei den früheren Versuchen beobachtete geringgradige Steigerung der Agglutinabilität der Coli-Stämme und der raschere Verlauf dieser Reaktion konnte bei Verwendung isohomologer Kaninchenimmunsera, die zumeist keine Mitagglutinine enthielten, in überzeugender Weise beobachtet werden.

Aus diesem Grunde ist es nunmehr fraglich geworden, ob die in den früheren Versuchen gemachten Beobachtungen einer Zunahme der Agglutinabilität und ihrer Intensität nicht vielleicht lediglich auf einer Steigerung der Affinität der Coli-Bacillenrezeptoren für die in den Immunseren (Pferdesera) von Haus aus in geringer Zahl vorhandenen Normalagglutinine (Nebenagglutination) beruht haben, oder ob tatsächlich vielleicht unter dem Einflusse der im ersten Falle durch längere Zeit fortgesetzten Züchtung der Kulturen bei Zimmertemperatur oder infolge der Eigentümlichkeit der verwendeten Stämme eine Art Paragglutination zur Entwickelung gelangte.

Aber diese zweite Versuchsreihe hat wiederum eine andere Erscheinung gebracht, und zwar die in den Versuchen 21, 22 und 24 zu beobachtenden Differenzen in bezug auf das agglutinatorische Verhalten ein und desselben Coli-Stammes gegen sein isohomologes Serum, insofern als die Agglutinierbarkeit jener Stämme, die längere Zeit mit anderen Bakterien gemeinsam gezüchtet wurden, gegen ihr isohomologes Serum eine wesentliche Steigerung gegenüber gleichlange gezüchteten Kontrollstämmen erfahren haben. Es ist dies besonders schön aus der Tabelle 22 zu ersehen, nach welcher der mit Flexner gemeinsam gezüchtete Coli-Stamm gegenüber der Kontrolle, die 4 Monate in Bouillon gezüchtet worden war, eine Steigerung seiner Agglutinierbarkeit von 2500 auf 10000 erfahren hat.

Ich möchte diese Tatsache deshalb besonders erwähnen, weil es immerhin möglich wäre, daß auch dieser Erscheinung beim Zustandekommen des von Kuhn und Woithe beobachteten Phänomens der Paragglutination eine, wenn auch nur untergeordnete, Mitbedeutung zukommen könnte.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:08 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Ich habe dann noch nach einer anderen Richtung versucht, dem Wesen der Paragglutination näherzutreten. Es war ja die Annahme naheliegend, daß das Auftreten der Paragglutination bei Begleitbakterien in einzelnen Fällen oder im ersen Stadium möglicherweise auf einer Resorption oder Adsorption präzipitabler oder agglutinabler Stoffwechselprodukte der Hauptbakterien zurückzuführen sei, Substanzen, die sich bei der Art der Fortpflanzung der Bakterien durch einige Generationen immerhin gegenüber hochwertigen Seren erhalten könnten. Aus diesem Grunde habe ich Staphylokokkenstämme mehrere Monate hindurch auf erstarrten und in flüssigen Rinderserumnährböden gezüchtet und jeden 4. Tag überimpft, bis sie schließlich auf Schrägagar übertragen wurden.

Aber schon die 2. Agargeneration verhielt sich einem hochwertigen gegen Rinderserum gerichteten präzipitierenden Serum gegenüber vollkommen refraktär, und dieser Versuch führte zu keinem brauchbaren Ergebnis. Da aber auch Staphylokokken peptonisieren, so wäre es immerhin möglich, vielleicht mit anderen Bakterienarten, die den Nährboden weniger intensiv verändern, brauchbare Resultate zu erzielen.

Im Laufe meiner Untersuchungen habe ich überdies in zahlreichen zur Untersuchung eingelangten Stühlen nach dem Vorhandensein von paragglutinierenden Bakterien geforscht, aber stets mit negativem Erfolge. Während dieser Zeit sind mir auch drei sehr chronische Fälle von klinischer Dysenterie zugekommen, die ich im Sinne der Beobachtungen Kuhn und Woithes untersuchte und deren Ergebnisse in Tabelle 27, 28 und 29 wiedergegeben wurden. Im ersten Falle bestanden blutige diarrhoische Stühle seit mehreren Monaten, im zweiten seit 7 Wochen, und im Blute war Eosinophilie nachzuweisen. Durch die bakteriologische Untersuchung wurde in einem Falle ein Stäbchen gefunden, das sich zunächst kulturell und biologisch wie Bac. Flexner verhielt und auch vom Immunserum bis zur Titergrenze agglutiniert wurde, das aber auf Traubenzucker in ganz geringer Menge Gas bildete und nach mehreren Tagen Milch zur Gerinnung brachte, wogegen im zweiten Falle auf den Drigalski-Platten zahlreiche blaue Kolonieen gewachsen waren, die sich als dem Paratyphus nahestehende Paracolibacillen erwiesen. Ob beide Bakterienarten in einer Beziehung zur Erkrankung gestanden haben, konnte nicht erwiesen werden, aber der chronische Verlauf der Krankheit stellte immerhin alle im Darme vorhandenen Bakterien unter jene Bedingungen, die das Zustandekommen der Paragglutination begünstigen konnten. In dem einen der beiden Fälle könnte es sich überdies um eine der echten Flexner-Ruhr nahestehende Form der Erkrankung gehandelt haben, da wir nach den Beobachtungen von Hiss, Twort, Lenz wissen, daß auch ältere Ruhrstämme ihr Verhalten gegen gewisse Kohlehydrate (Maltose, Saccharose) ändern können. Außer typischen Coli-Stämmen fanden sich auch zahlreiche Kokkenkolonieen auf den Platten vor. Mit den einzelnen Stämmen wurden dann isohomologe Immunsera hergestellt, doch zeigt die mit ihnen vorgenommene kreuzweise Agglutination nur in einem Falle, und zwar in Tabelle 27, insofern Paragglutination, als das mit den Kokken hergestellte Immunserum auch den Paracolistamm des Patienten, und umgekehrt auch das Serum des Coli-Stammes den Kokkenstamm bis zu 10 Proz. ihrer jeweiligen Titerhöhen mitagglutinieren, was immerhin nach unseren bisherigen Ergebnissen auffallend ist und deshalb vielleicht mit Recht im Sinne einer Paragglutination gedeutet werden darf, um so mehr als die vor der Immunisierung geprüften Kaninchensera keine Normalagglutinine für diese Stämme enthalten hatten.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:08 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Von ganz besonderem Interesse ist ein dritter mir zugekommener Fall, der ein Schulbeispiel für das Zustandekommen einer Paragglutination an Begleitbakterien im Verlaufe einer chronischen infektiösen Darmerkrankung darstellen sollte. Es handelte sich um eine Frau die vor 5 Jahren unter den Erscheinungen einer Dysenterie erkrankt war und seit dieser Zeit an ständigen Darmerscheinungen leidet. Seit dem Jahre 1912 verschlechterte sich der Zustand, mit dem Stuhle gingen häufig Blut und Eiter ab. Diese Frau wurde im Februar 1913 in einem hiesigen Krankenhause aufgenommen und die Untersuchung ergab eine infolge geschwüriger Veränderungen in der Gegend der Flexura sigmoidea bestehende sehr ausgebildete Darmstenose. Da sich auch weiterhin in den Entleerungen Blut und Eiter vorfand, so mußte auf geschwürige Prozesse in den obersten Colon- oder Dickdarmpartieen geschlossen werden, die allerdings mit dem Rektoskope zufolge der bestehenden Stenose als solche nicht diagnostiziert werden konnten. Die im März 1913 vorgenommene Untersuchung des Blutes ergab einen Agglutinationstiter von 1 : 100 komplett gegen Shiga-Kruse, und es wurden im Stuhle Dysenteriebacillen nachgewiesen. Die im Februar 1914 in unserem Institute vorgenommene Untersuchung des Stuhles ergab abermals ein positives Ergebnis auf Shiga-Bacillen. Es ist demnach also sicher, daß diese Frau durch mindestens 9 Monate echte Shiga-Bacillen im Darme hatte, eine Tatsache, die nicht nur für die Frage der Dauerausscheider bei Ruhr von größtem Interesse ist, sondern die insbesondere für das Zustandekommen einer Paragglutination bei gewissen apathogenen Darmbakterien von essentieller Bedeutung sein mußte, wenn wirklich dem kranken Organismus im Sinne Kuhn und Woithes die entscheidende Rolle hierbei zukommt. Die Ruhrbacillen bleiben ja im Gegensatze zu Typhusbacillen ständig im Darme, und im vorliegenden Falle, wo es sich überdies um chronische Veränderungen des Darmes unter der Einwirkung eines toxischen Ruhrstammes handelte, lebten die Begleitbakterien unter Umständen, die für die Entstehung einer Paragglutination die denkbar günstigsten Verhältnisse bieten mußten.

Aus dem Stuhl und dem diesen beigemischten Eiter wurden folgende Bakterien gezüchtet und auf ihr serologisches Verhalten geprüft: Bac. dysenteriae Shiga, B. coli I, B. coli II, Paracoli I, Paracoli II, B. proteus. Die Ergebnisse der Agglutinationsversuche finden sich in Tabelle 29 wiedergegeben, und es ist daraus zu ersehen, daß trotz der zur Ausbildung einer Paragglutination der Begleitbakterien scheinbar günstigsten Umstände keine erheblichere Mitbeeinflussung der Begleitbakterien durch das dem Hauptstamme zugehörige Immunserum konstatiert werden konnte. Leider ist mir dieser Fall gerade während der Korrekturen dieser Arbeit zugekommen, so daß ich nicht mehr in die Lage kam, die einzelnen isohomologen Sera der einzelnen Stämme darzustellen; ich werde im Falle eines Ergebnisses darüber später berichten, obgleich ich schon heute auf Grund des Verhaltens der einzelnen Stämme gegenüber dem Shiga-Immunserum vermute, daß auch diese Versuche ein negatives Resultat ergeben dürften.

Zusammenfassung.

Durch das gemeinsame Züchten von toxischen und atoxischen Darmbakterien mit B. coli (Staphylokokken) ist es selbst nach monatelanger Dauer nicht gelungen, dem Bac. coli (Staphylokokken) gemeinschaftliche,

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:08 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

für das Agglutinin der anderen Stämme empfindliche Rezeptoren in erheblicherem Maße anzuzüchten. Die vorhandenen und für die Art charakteristischen agglutininempfindlichen Rezeptoren scheinen aber bei gemeinsamer Züchtung im Sinne gesteigerter Avidität und Erhöhung des Titers für das zugehörige Agglutinin eine Veränderung zu erfahren.

Für die Annahme, daß die von Kuhn und Woithe beobachtete Paragglutination auf einer Adsorption irgendwelcher, den Hauptbakterien entstammender agglutinabler oder präzipitabler Substanzen beruhe, konnte auf experimentellem Wege ein Anhaltspunkt nicht gefunden werden, es scheinen vielmehr zu ihrem Zustandekommen eine Reihe von Faktoren notwendig zu sein, unter denen vielleicht weniger die direkte Beeinflussung der Begleitbakterien durch die Hauptbakterien in Betracht kommt, eher noch scheint der unter dem Einflusse des die Krankheit erzeugenden Bakterienstammes stehende und veränderte Organismus von ausschlaggebender Bedeutung zu sein, indem seine ständigen Abwehrversuche verschiedenartige Bakterien unter geeigneten Umständen zu gleichsinnigen Aenderungen ihrer Struktur im Sinne des Hauptstammes veranlassen. Daß diese Umstände aber von ganz besonderer Art sein müssen, geht daraus hervor, daß die von Kuhn und Woithe gefundene Tatsache auch unter sonst scheinbar gleichen Bedingungen nur verhältnismäßig sehr selten zur Beobachtung gelangt. Es müßten also außer dem Zusammenleben der verschiedenen Bakterien im kranken Organismus, auch wenn die Krankheit lange andauert, besondere und ganz bestimmte Faktoren mitwirken, die wir zurzeit noch nicht kennen, und die nur in bestimmten Fällen vorhanden, das Phänomen der „Paragglutination" bedingen.

In letzter Linie ist man deshalb unwillkürlich geneigt, für das Zustandekommen dieser von Kuhn und Woithe beobachteten Erscheinung an eine Art von Mutation (sit venia verbo) der agglutinablen Substanzen der Bakterienstämme in serologischer Beziehung zu denken, ähnlich wie dies ja kulturell stattfinden kann, und dies um so mehr, als es sich ja in vorliegendem Falle um zwei Arten, nämlich um Flexner und Coli gehandelt hatte, deren agglutinable und agglutinogene Substanz sehr beeinflußbar sind, und schließlich auch um keinen echten Micrococcus, sondern um einen Coccobacillus, über den wir nichts Näheres wissen.

Es wurden ja auch von Rimbaud und Rubinstein aus dem Darme Typhuskranker eine Reihe von Bakterien isoliert, die im Systeme zwischen Coli- und Typhusbacillen zu stellen wären, und für die die genannten Forscher eine Mutation, ein Uebergehen der einen Form in die andere annehmen, ähnlich wie dies Altschüler und Doebert für den häufiger im Gefolge von Typhuserkrankungen gefundenen Bac. faecalis alcaligenes, ferner Hottinger für den Hogcholerabacillus annimmt. Wenn diese Annahmen auch berechtigte Einwände hervorgerufen haben, so ist es doch auch bei dem von Kuhn und Woithe gezüchteten Coli-Stamme auffallend, daß er nicht nur für Flexner- und Y-Serum, sondern auch für Typhus- und Paratyphusserum, ja selbst für normales Kaninchserum hoch agglutinierbar war, wofür wir

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:08 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

keine Erklärungen in der Ruhrerkrankung finden können. Wenn wir nun annehmen, daß es sich im vorliegenden Falle von vornherein um einen Coli-Stamm gehandelt hat, dem ein besonders verschiedenartiger und anpassungsfähiger Rezeptorenapparat anhaftete, und dafür spricht, daß er von so vielen heterologen Seren beeinflußt wurde, dann wäre das Zustandekommen der Paragglutination allerdings in erster Linie von dem betreffenden eigenartigen Coli-Stamme selbst abhängig, und wir müssen dem Hauptstamme und dem durch die Krankheit veränderten Organismus nur eine sekundäre Rolle, die Rolle des begünstigenden Agens als Nährboden zuschreiben. Dann wäre allerdings auch erklärt, warum das von Kuhn und Woithe beobachtete Phänomen nur so selten trotz häufiger und gleicher Bedingungen zur Beobachtung gelangt; denn der von Kuhn und Woithe erhobene gehäufte Befund bei eng zusammenwohnenden Menschen würde um so weniger gegen diese Annahme sprechen, als ja derselbe merkwürdige Coli-Stamm auch bei 2 gesunden Irren derselben Anstalt gefunden wurde, die niemals krank, dem Coli-Stamme auch nicht jene bestimmenden Bedingungen geboten haben, die Kuhn und Woithe dem erkrankten Organismus zum Zustandekommen der Paragglutination zuschreiben. Auf Grund dieser Tatsachen und meiner negativen Ergebnisse und insbesondere gestützt auf die aus der Praxis gewonnenen Erfahrungen neige ich der Ansicht zu, daß das Hauptmoment für das Zustandekommen der Paragglutination in erster Linie in dem paragglutinierenden Stamme selbst zu suchen ist.

I. Versuch.

Am 1. Febr. 1912 wurde je 1 Liter Bouillon mit B. typhi geimpft und diese Kultur am 8. und 9. Febr. bei 75° durch je 1 Stunde erhitzt und abgetötet. Am 9. Febr. wurde in die abgetötete Kultur Staphylococcus aureus eingeimpft und folgende Proben entnommen und mit Typhusserum agglutiniert.

Tag der Probeentnahme	Zeitintervalle seit der Impfung in Tagen	Wirkung des agglutinierenden Typhusimmunserums	
		komplett	partiell
15. Febr.	6	0	0
4. März	23	0	0
15. „	34	0	0
11. April	61	0	0

Kontrolle: Agglutinationswert des Immunserums gegenüber Typhus: 1:1000 komplett; gegenüber dem Staphylococcus: 0.

II. Versuch.

Am 1. Febr. 1912 wurde 1 Liter Bouillon mit B. typhi geimpft und diese Kultur am 8. und 9. Febr. bei 75° durch je 1 Stunde erhitzt und abgetötet. Am 9. Febr. wurde in die abgetötete Kultur B. coli eingeimpft und folgende Proben entnommen und mit Typhusserum agglutiniert.

Tag der Probeentnahme	Zeitintervalle seit der Impfung in Tagen	Wirkung des agglutinierenden Typhusserums	
		komplett	inkomplett
15. Febr.	6	1:30	1:100
4. März	23	1:30	1:60
15. „	34	1:30	1:50
11. April	61	1:30	1:100

Kontrolle: Agglutinationswert des Immunserums gegenüber Typhus: 1:1000; gegenüber dem Coli-Stamm: 1:30—60.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:08 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

III. Versuch.

Am 24. Febr. 1912 wurden B. typhi und B. coli gemeinsam in 1 Liter Bouillon geimpft. Da sich am 16. März der Typhus als völlig überwuchert erwies, wurde neuerlich ein Röhrchen 24-stündiger Typhusbouillonkultur in den Literkolben gegossen.

Tag der Probeentnahme	Zeitintervalle seit der Impfung in Tagen	Wirkung des agglutinierenden Typhusimmunserums	
		komplett	inkomplett
4. März	10	1:30	1:50
11. April	47	1:50	1:100

Kontrolle: Agglutinationswert des Immunserums gegenüber Typhus: 1:1000; gegenüber dem Coli-Stamm 1:30—60.

IV. Versuch.

Am 1. Febr. 1912 wurde 1 Liter Bouillon mit B. paratyphi geimpft und diese Kultur am 8. und 9. Febr. bei 75° durch je 1 Stunde erhitzt und abgetötet. Am 10. Febr. wurde in die abgetötete Kultur Staphylococcus aureus eingeimpft und folgende Proben entnommen und mit Paratyphusserum agglutiniert.

Tag der Probeentnahme	Zeitintervalle seit der Impfung in Tagen	Wirkung des agglutinierenden Paratyphusserums	
		komplett	inkomplett
15. Febr.	5	1:10	1:33
4. März	22	1:30	1:50
15. „	33	1:25	1:50
11. April	60	1:15	1:30

Kontrolle: Agglutinationswert des Immunserums gegenüber Paratyphus: 1:20000 gegenüber dem Staphylococcus-Stamm: 1:10—30.

V. Versuch.

Am 1. Febr. 1912 wurde 1 Liter Bouillon mit B. paratyphi geimpft und diese Kultur am 8. und 9. Febr. bei 75° durch je 1 Stunde erhitzt und abgetötet. Am 10. Febr. wurde in die abgetötete Kultur B. coli eingeimpft und folgende Proben entnommen und mit Paratyphusserum agglutiniert.

Tag der Probeentnahme	Zeitintervalle seit der Impfung in Tagen	Wirkung des agglutinierenden Paratyphusserums	
		komplett	inkomplett
15. Febr.	5	1:50	1:55
4. März	22	1:50	1:60
15. „	33	1:70	1:100
11. April	60	1:83	1:100

Kontrolle: Agglutinationswert des Immunserums gegenüber Paratyphus: 1:20000; gegenüber dem Coli-Stamm: 1:50—70.

VI. Versuch.

Am 24. Febr. 1912 wurden B. paratyphi und B. coli gemeinsam in 1 Liter Bouillon geimpft und am 16. März abermals ein Bouillonröhrchen 24-stündiger Paratyphusbouillonkultur nachgegossen.

Tag der Probeentnahme	Zeitintervalle seit der Impfung in Tagen	Wirkung des agglutinierenden Typhusserums	
		komplett	inkomplett
4. März	8	1:55	1:80
16. „	20	1:60	1:125
11. April	46	1:125	1:166

Kontrolle: Agglutinationswert des Immunserums gegenüber Paratyphus: 1:20000; gegenüber dem Coli-Stamm: 1:50—70.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:08 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

VII. Versuch.

Am 6. Febr. 1912 wurde 1 Liter Bouillon mit B. dysenteriae Shiga geimpft und diese Kultur am 8. und 16. Febr. durch je 1 Stunde erhitzt und abgetötet. Am 17. Febr. wurde in die abgetötete Kultur Staphylococcus aureus eingeimpft und folgende Proben entnommen, die mit Shiga-Serum agglutiniert wurden.

Tag der Probeentnahme	Zeitintervalle seit der Impfung in Tagen	Wirkung des agglutinierenden Shiga-Serums	
		komplett	partiell
23. Febr.	5	1:30	1:100
13. März	23	1:30	1:100
11. April	52	1:30	1:100

Kontrolle: Agglutinationswert des Immunserums gegenüber Dysent. Shiga: 1:1000; gegenüber dem Staphylococcus-Stamm: 1:30.

VIII. Versuch.

Am 6. Febr. 1912 wurde 1 Liter Bouillon mit B. dysenteriae Shiga geimpft und diese Kultur am 8. und 16. Febr. durch je 1 Stunde erhitzt und abgetötet. Am 17. Febr. wurde in die abgetötete Kultur B. coli eingeimpft und folgende Proben entnommen, die mit Shiga-Serum agglutiniert wurden.

Tag der Probeentnahme	Zeitintervalle seit der Impfung in Tagen	Wirkung des agglutinierenden Shiga-Serums	
		komplett	inkomplett
23. Febr.	5	1:50	1:100
13. März	23	1:100	1:125
11. April	52	— [1])	—

Kontrolle: Agglutinationswert des Immunserums gegenüber Dysent. Shiga: 1:1000; gegenüber dem Coli-Stamm 1:60—80.

IX. Versuch.

Am 2. März 1912 wurde B. Shiga gemeinsam mit B. coli in 1 Liter Bouillon verimpft und daraus folgende Coli-Proben agglutiniert.

Tag der Probeentnahme	Zeitintervalle seit der Impfung in Tagen	Wirkung des agglutinierenden Immunserums	
		komplett	inkomplett
13. März	11	1:125	1:160
11. April	40	1:125	1:160

Kontrolle: Agglutinationswert des Immunserums gegenüber Dysent. Shiga: 1:1000; gegenüber dem Coli-Stamm: 1:60—80.

X. Versuch.

Am 6. Febr. 1912 wurde 1 Liter Bouillon mit B. dysent. Flexner geimpft und diese Kultur am 13. u. 14. Febr. durch je 1 Stunde bei 75° C erwärmt und in die abgetötete Kultur am 15. Febr. Staphyl. aureus geimpft. Es wurden folgende Proben mit Flexner-Serum agglutiniert.

Tag der Probeentnahme	Zeitintervalle seit der Impfung in Tagen	Wirkung des agglutinierenden Immunserums	
		komplett	inkomplett
23. Febr.	8	1:30	1:100
13. März	26	1:50	1:100

Kontrolle: Agglutinationswert des Immunserums gegenüber Dysent. Flexner: 1:1000; gegenüber dem Staphyl.-Stamm: 1:30—100.

1) Kein Wachstum mehr.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:08 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

XI. Versuch.

Am 6. Febr. 1912 wurde 1 Liter Bouillon mit B. dysent. Flexner geimpft und diese Kultur am 13. u. 14. Febr. durch je 1 Stunde bei 75° C erhitzt und in die abgetötete Kultur am 15. Febr. B. coli eingeimpft. Es wurden folgende Proben entnommen und mit Flexner-Serum agglutiniert.

Tag der Probeentnahme	Zeitintervalle seit der Impfung in Tagen	Wirkung des agglutinierenden Immunserums	
		komplett	inkomplett
23. Febr.	8	1:100	1:500
13. März	26	1:100	1:500

Kontrolle: Agglutinationswert des Immunserums auf Dys. Flexner: 1:1000; auf den Coli-Stamm: 1:100—500.

XII. Versuch.

Am 2. März 1912 wurden in 1 Liter Bouillon B. dysent. Flexner gemeinsam mit B. coli geimpft und daraus folgende Proben entnommen und mit Flexner-Serum agglutiniert.

Tag der Probeentnahme	Zeitintervalle seit der Impfung in Tagen	Wirkung des agglutinierenden Immunserums	
		komplett	inkomplett
13. März	11	1:120	1:500
11. April	39	1:160	1:500

Kontrolle: Agglutinationswert des Immunserums auf Dysent. Flexner: 1:1000; auf den Coli-Stamm: 1:100—500.

XIII. Versuch.

Am 2. März 1912 wurden in 1 Liter Bouillon B. dysent. Flexner gemeinsam mit Staphyl. aureus geimpft. Da am 16. März bereits die Staphylokokken völlig überwuchert waren, wurde B. coli eingeimpft und folgende Probe entnommen.

Tag der Probeentnahme	Zeitintervall seit der Impfung in Tagen	Wirkung des agglutinierenden Immunserums	
		komplett	inkomplett
11. April	25	1:250	1:500

Kontrolle: Agglutinationswert des Immunserums auf Dysent. Flexner: 1:1000; auf den Coli-Stamm: 1:100—500.

XIV. Versuch.

Am 2. März 1912 wurden in 1 Liter Bouillon B. Shiga und Staph. aureus gemeinsam überimpft. Bereits am 15. März waren die Staphylokokken völlig überwuchert, es wurde deshalb B. coli eingeimpft und daraus folgende Probe entnommen.

Tag der Probeentnahme	Zeitintervall seit der Impfung in Tagen	Wirkung des agglutinierenden Immunserums	
		komplett	inkomplett
11. April	27	1:125	1:166

Kontrolle: Agglutinationswert des Immunserums gegenüber Dysent. Shiga: 1:1000; gegenüber dem Coli-Stamm: 1:60—80.

XV. Versuch.

Am 24. Febr. 1912 wurden B. typhi und Staphyl. aureus gemeinsam in 1 Liter Bouillon geimpft. Da sich am 16. März die Staphylokokken als vom Typhus vollkommen überwuchert erwiesen, wurde nunmehr in diese 1 Liter-Typhuskultur 1 Bouillonröhrchen 24-stündiger Coli-Kultur, die dem Versuch II entnommen war, eingeimpft.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:08 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tag der Probeentnahme	Zeitintervall seit der Impfung in Tagen	Wirkung des agglutinierenden Typhusimmunserums	
		komplett	partiell
11. April	25	1:30	1:100

Kontrolle: Agglutinationswert des Immunserums gegenüber Typhus: 1:1000; gegenüber dem Coli-Stamm: 1:30—60.

XVI. Versuch.

Agglutinationswirkung eines Typhusimmunserums (Kaninchen) isohomolog dem zum Versuche verwendeten Stamme.

1	Typhusagarkulturaufschwemmung	1:25 000
2	Typhus aus 2 Monate alter Bouillonkultur gezüchtet	1:25 000
3	„ „ 4 „ „ „ „	1:25 000
4	Coli-Stammkultur	θ
5	Coli aus 4 Monate alter Bouillonkultur gezüchtet	θ
6	Coli gemeinsam mit Typhus 2 Monate in Bouillon gezüchtet	θ
7	„ „ „ „ 4 „ „ „ „	θ

XVII. Versuch.

Agglutinationswirkung eines Coli-Immunserums (Kaninchen), gewonnen mit einem Coli-Stamme, welcher 4 Monate gemeinsam mit Typhus in Bouillon gezüchtet worden war.

1	Typhusagarkulturaufschwemmung	θ
2	Typhus aus 2 Monate alter Bouillonkultur	θ
3	Coli-Stammkulturaufschwemmung	16 000
4	Coli aus 4 Monate alter Bouillonkultur	16 000
5	Coli gemeinsam mit Typhus 2 Monate in Bouillon gezüchtet	16 000
6	„ „ „ „ 4 „ „ „ „	16 000

XVIII. Versuch.

Agglutinationswirkung eines Paratyphus B-Immunserums (Kaninchen), isohomolog dem zum Versuche verwendeten Stamme.

1	Paratyphusagarkulturaufschwemmung	55 000
2	Paratyphus aus 2 Monate alter Bouillonkultur gezüchtet	55 000
3	„ „ 4 „ „ „ „	55 000
4	Coli-Agarstammkulturaufschwemmung	θ
5	Coli-Stammkultur aus 4 Monate alter Bouillonkultur	θ
6	Coli 2 Monate in pasteurisierter Paratyphusbouillonkultur gezüchtet	θ
7	„ 4 „ „ „ „ „	θ

XIX. Versuch.

Agglutinationswirkung eines Coli-Immunserums (Kaninchen), gewonnen mit einem Coli-Stamme, welcher 4 Monate in einer pasteurisierten Paratyphus B-Bouillonkultur gezüchtet worden war, auf:

1	Paratyphusagarkulturaufschwemmung	θ
2	Paratyphus aus 2 Monate alter Bouillonkultur gezüchtet	θ
3	„ „ 4 „ „ „ „	θ
4	Coli-Stammkultur-Agaraufschwemmung	5000
5	Coli-Stammkultur aus 4 Monate alter Bouillonkultur	5000
6	Coli 2 Monate in pasteurisierter Paratyphus B-Bouillonkultur gezüchtet	5000
7	„ 4 „ „ „ „ „	5000
8	Paratyphus B gemeinsam 2 Monate mit Coli in Bouillon gezüchtet	θ

XX. Versuch.

Agglutinationswirkung des Flexner-Kaninchenimmunserums, isohomolog dem zum Versuche verwendeten Stamme, auf:

1	den zur Immunisierung verwendeten Flexner-Stamm	1:1000
2	denselben Stamm nach 2 Monate langer Züchtung in Bouillon	1:1000
3	B. coli-Agarstammkulturaufschwemmung	θ

Generated on 2019-09-15 15:08 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

4	dasselbe B. coli aus 2 Monate alter Bouillonkultur	0
5	„ „ „ „ 4 „ „ „	0
6	„ B. coli gemeinsam gezüchtet in Bouillon 2 Monate mit Bac. Flexner	0
7	dasselbe B. coli gemeinsam gezüchtet in Bouillon 4 Monate mit Bac. Flexner	0
8	dasselbe B. coli gezüchtet aus 2 Monate alter Bouillonkultur, in der früher 8 Tage B. Flexner gezüchtet war, das dann durch Pasteurisieren abgetötet wurde	0

XXI. Versuch.

Agglutinationswirkung eines Coli-Immunserums (Kaninchen), gewonnen mit einem Coli-Stamm, der 4 Monate in einer pasteurisierten Flexner-Bouillonkultur gezüchtet worden war, auf:

1	Flexner	0
2	Flexner aus 4 Monate alter Bouillonkultur	0
3	Coli gemeinsam mit Flexner 2 Monate in Bouillon gezüchtet	10 000
4	„ „ „ „ 4 „ „ „ „	8 000
5	Coli 2 Monate in pasteurisierter Flexner-Bouillonkultur gezüchtet	10 000
6	Coli-Agarstammkulturaufschwemmung	1 000
7	Coli-Stammkultur aus 4 Monate alter Bouillonkultur	5 000

XXII. Versuch.

Agglutinationswirkung des Coli-Immunserums (Kaninchen), gewonnen mit einem Coli-Stamm, der 4 Monate gemeinsam mit B. Flexner in Bouillon gezüchtet worden war, auf:

1	Flexner	1:40
2	Flexner aus 4 Monate alter Bouillonkultur	0
3	Coli gemeinsam mit Flexner 2 Monate in Bouillon gezüchtet	1:10 000
4	„ „ „ „ 4 „ „ „ „	1:10 000
5	Coli 2 Monate gezüchtet in pasteurisierter Flexner-Bouillonkultur	1:10 000
6	Coli-Agarstammkulturaufschwemmung	1: 1 000
7	Coli-Stammkultur gezüchtet aus 2 Monate alter Bouillonkultur	1: 2 000
8	„ „ „ 4 „ „ „	1: 2 500

XXIII. Versuch.

Agglutinationswirkung eines Shiga-Kruse-Immunserums (Kaninchen), isohomolog dem zum Versuche verwendeten Stamme, auf:

1	Shiga-Agarkulturaufschwemmung	1200
2	Shiga aus 2 Monate alter Bouillonkultur	1200
3	„ „ 4 „ „ „	1200
4	Coli-Stammagarkulturaufschwemmung	20
5	Coli-Stammkultur aus 4 Monate alter Bouillonkultur	10
6	Coli 2 Monate in pasteurisierter Shiga-Bouillonkultur gezüchtet	20
7	Coli 2 Monate gemeinsam mit Shiga in Bouillon gezüchtet	20
8	„ 4 „ „ „ „ „ „ „	40

XXIV. Versuch.

Agglutinationswirkung eines Coli-Immunserums (Kaninchen), gewonnen mit einem Coli-Stamm, welcher 2 Monate in pasteurisierter Shiga-Kruse-Bouillonkultur gezüchtet worden war, auf:

1	Shiga-Stammkultur-Agaraufschwemmung	0
2	Shiga-Stammkultur aus 2 Monate alter Bouillonkultur	0
3	„ „ 4 „ „ „	0
4	Coli-Stammkultur-Agarkulturaufschwemmung	9 000
5	Coli-Stammkultur aus 4 Monate alter Bouillonkultur	25 000
6	Coli 2 Monate gemeinsam mit Shiga-Kruse in Bouillon gezüchtet	25 000
7	„ 4 „ „ „ „ „ „	25 000
8	Coli 2 Monate in pasteurisierter Shiga-Kruse-Bouillonkultur gezüchtet	16 600

XXV. Versuch.

Agglutinationswirkung eines Coli-Immunserums (Kaninchen), gewonnen mit einem Coli-Stamm, welcher 4 Monate gemeinsam mit Shiga-Kruse in Bouillon gezüchtet worden war, auf:

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:08 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

1	Shiga-Stammkultur-Agarkulturaufschwemmung	θ
2	Shiga-Stammkultur aus 2 Monate alter Bouillonkultur	θ
3	„ „ 4 „ „ „	θ
4	Coli-Stammkultur-Agarkulturaufschwemmung	2000
5	Coli-Stammkultur aus 4 Monate alter Bouillonkultur	2500
6	Coli 2 Monate in pasteurisierter Shiga-Bouillonkultur gezüchtet	2000
7	Coli 2 Monate gemeinsam mit Shiga in Bouillon gezüchtet	2000
8	„ 4 „ „ „ „ „ „	2000

XXVI. Versuch.

Agglutinationswirkung von:

1	Pyocyaneus-Immunserum, gewonnen mit einem Stamm, der 2 Monate in Typhusbouillonkultur gezüchtet wurde, auf Typhus	θ
2	Pyocyaneus-Immunserum, gewonnen mit einem Stamm, der 4 Monate in Typhusbouillonkultur gezüchtet wurde, auf Typhus	θ
3	Typhusimmunserum auf diesen Pyocyaneus-Stamm	θ
4	Pyocyaneus-Immunserum, gewonnen mit einem Stamm, der 2 Monate in Paratyphus B-Bouillonkultur gezüchtet wurde, auf Paratyphus B	θ
5	Pyocyaneus-Immunserum, gewonnen mit einem Stamm, der 4 Monate in Paratyphus B-Bouillonkultur gezüchtet wurde, auf Paratyphus B	θ
6	Paratyphus B-Immunserum auf diesen Pyocyaneus-Stamm	θ
7	Pyocyaneus-Immunserum, gewonnen mit einem Stamm, der 2 Monate in Flexner-Bouillonkultur gezüchtet wurde, auf Flexner	θ
8	Pyocyaneus-Immunserum, gewonnen mit einem Stamm, der 4 Monate in Flexner-Bouillonkultur gezüchtet wurde, auf Flexner	θ
9	Flexner-Immunserum auf diesen Pyocyaneus-Stamm	θ
10	Pyocyaneus-Immunserum, gewonnen mit einem Stamm, der 2 Monate in Shiga-Kruse-Bouillonkultur gezüchtet wurde, auf Shiga	θ
11	Pyocyaneus-Immunserum, gewonnen mit einem Stamm, der 4 Monate in Shiga-Kruse-Bouillonkultur gezüchtet wurde, auf Shiga	θ
12	Shiga-Kruse-Immunserum auf diesen Pyocyaneus-Stamm	θ

XXVII. Versuch.

Agglutinationswirkung von:

	Immunserum, hergestellt mit dem Paracoli-Stamme des Patienten G. auf:	Immunserum, hergestellt mit einem Coli-Stamme des Patienten G. auf:	Immunserum, hergestellt mit einem Kokkenstamme des Patienten G. auf:
Typhus	θ	θ	θ
Shiga	θ	θ	θ
Flexner	200	350	θ
Paratyphus B	θ	θ	θ
Coli	θ	θ	θ
Paracoli d. Pat.	1200	200	100 — (300 partiell)
Coli „ „	100	1000	θ
Kokken „ „	θ	80	1000

XXVIII. Versuch.

Agglutinationswirkung von:

	Immunserum, hergestellt mit dem Paracoli-Stamme des Patienten D. auf:	Immunserum, hergestellt mit einem Coli-Stamme des Patienten D. auf:	Immunserum, hergestellt mit einem Kokkenstamme des Patienten D. auf:
Typhus	θ	θ	θ
Shiga	θ	θ	θ
Flexner	160	40	θ
Paratyphus B	θ	θ	θ
Coli	θ	θ	θ
Paracoli d. Pat.	1500	100	θ
Coli „ „	120	2000	θ
Kokken „ „	θ	θ	400

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:08 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

XXIX. Versuch.

Art des Immunserums	Einwirkung auf					
	B. Shiga	B. proteus	Paracoli I	Paracoli II	Coli I	Coli II
Shiga-Serum Titer 1:800	1:1000	1:80	0	0	1:40	1:160
Typhusserum Titer 1:4000	0	1:80	0	0	1:80	0
Paratyphus B Titer 1:50000	1:80	0	0	0	1:160	0
Flexner-Ser. Titer 1:1000	1:120	1:80	0	0	1:160	0

Nachdruck verboten.

Die Abderhaldensche Reaktion bei protozoischer und metazoischer Parasiteninfektion.

[Aus dem Institut für Schiffs- und Tropenkrankheiten in Hamburg (Leiter: Obermedizinalrat Prof. Dr. Nocht).]

Von Dr. **L. Gózony,** Budapest.

Da bei Infektion mit tierischen Parasiten noch keine Versuche mit dem Abderhaldenschen Dialysierverfahren gemacht zu sein scheinen, glaubte ich, die Gelegenheit wegen des reichlich vorhandenen Materials in Hamburg zu einigen Versuchen benutzen zu sollen, die natürlich einen endgültigen Beweis für den Wert der Reaktion bei dieser Infektion noch nicht bilden können.

Bei einigen Protozoenerkrankungen, bei welchen die Erreger im Anfangsstadium der Krankheit nicht leicht nachweisbar sind, wäre natürlich eine indirekte biologische Reaktion von großer praktischer Wichtigkeit. Dagegen haben dort, wo der Erreger direkt nachweisbar ist, die indirekten Immunitätsreaktionen selbstverständlich mehr eine theoretische Bedeutung.

Zunächst wäre bei den Trypanosomenkrankheiten und besonders bei der Schlafkrankheit eine auch in den Tropen leicht ausführbare Reaktion von Nutzen, aber auch vom theoretischen Standpunkte aus ist es bedeutungsvoll, den Nachweis zu erbringen, ob gegenüber den Trypanosomen im infizierten Organismus Abwehrfermente gebildet werden.

Im folgenden möchte ich über meine diesbezüglichen Versuche berichten.

Da die pathogenen Trypanosomen nur schwer züchtbar sind, und aus Kulturen soviel Trypanosomenmaterial zu bekommen, wie für die Abderhaldensche Dialysiermethode nötig ist, nicht durchführbar ist, habe ich für die Reaktion die an Trypanosomen reichhaltigen Organe (Lunge und Leber) von stark infizierten Kaninchen, Meerschweinchen und Ratten als Antigen benutzt.

So wurden Lunge und Leber von mit Trypanosoma equiperdum, Tr. equinum und Tr. brucei infizierten Kaninchen von mit Tr. congolense infiziertem Meerschweinchen und mit Tr. lewisi

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:08 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

infizierter Ratte vorbereitet. Von 16 Organen waren 6 brauchbar. Die Resultate enthält die folgende Tabelle:

I. Abbau von verschiedenen, Trypanosomen enthaltenden Organen mit kranken und normalen Kaninchensera.

Fall	Art des Serums	Tr. equinum-Kaninchenleber	Tr. equinum-Kaninchenlunge	Tr. brucei-Kaninchenleber	Tr. brucei-Kaninchenlunge	Tr. congolense-Meerschweinchenlunge	Tr. equiperdum-Kaninchenlunge	Tr. lewisi-Rattenlunge	Normale Kaninchenlunge	Serum allein
1	Tr. equinum-Kaninchenserum	+	+	+	+	+	.	.	.	—
2	Normales Kaninchenserum	—	—	—	—	—	.	.	.	—
3	Tr. equinum-Kaninchenserum	+	+	.	.	.	.	.	.	—
4	Normales Kaninchenserum	—	—	.	.	.	.	.	.	—
5	Luetisches Kaninchenserum	—	—	.	.	.	.	.	.	—
6	Tr. brucei-Kaninchenserum	.	.	.	+	.	.	.	.	—
7	Normales Kaninchenserum	.	.	.	+	.	.	.	.	—
8	Tr. congolense-Meerschweinchenserum	.	.	.	+	+	.	.	—	—
9	Normales Meerschweinchenserum	.	.	.	—	—	.	.	—	—
10	Tr. equiperdum-Kaninchenserum	.	.	.	+	.	+	.	—	—
11	Tr. lewisi-Rattenserum	.	.	.	.	.	.	—	.	—
12	Tr. lewisi-Rattenserum	.	.	.	.	.	+	—	.	—
13	Normales Kaninchenserum	.	.	.	.	.	.	—	.	—
14	Normales Schafserum	.	.	.	.	.	—	.	.	—
15	Normales Schafserum	.	.	.	—	.	.	.	.	—
16	Leberegel-Schafserum	.	.	.	.	.	—	.	.	—
17	0,85-proz. NaCl-Lösung	.	.	.	—	—	.	.	—	.
18	Schlafkrankenserum vom Menschen	.	.	+	+	.	.	.	.	—

Wie aus dieser Tabelle hervorgeht, reagierte normales Kaninchenserum (von 5 Tieren) nicht mit Trypanosomen enthaltenden Organen, ebenso war auch mit luetischem Kaninchenserum die Reaktion negativ. Die normalen sowie die von leberegelkranken Tieren stammenden Schafsera ergaben auch keine Abbauprodukte mit diesen Organen.

Sämtliche von trypanosomenkranken Tieren stammenden Sera (mit Ausnahme einer Lewisi-Ratte) bauen die Trypanosomen enthaltenden Organe ab. Normale Kaninchenlunge und die wenige Trypanosomen enthaltende einer Tr. lewisi-Ratte gaben keine Abbauprodukte.

Bei einigen Trypanosomensera bemerkte ich, daß sie dialysierbare, mit Ninhydrin zwar schwach reagierende Stoffe enthielten.

Bei den Trypanosomen scheinen die Abbaufermente nicht artspezifisch zu sein, wie aus der Tabelle hervorgeht.

Generated on 2019-09-15 15:08 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Mit Hühnerspirochätenserum konnten nur 2 orientierende Versuche vorgenommen werden, aus denen endgültige Schlüsse noch nicht gezogen werden können. In einem Falle wurde nur Hühnerspirochätenleber abgebaut, Naganaleber aber nicht. In einem anderen Falle konnte eine schöne positive Reaktion auch nur mit dem homologen Antigen festgestellt werden, allerdings erzielte ich auch mit Naganalunge und Dourineleber eine ganz schwache Reaktion.

II. Die Abderhaldensche Reaktion bei Sarcosporidiasis.

Fall		Sarkosporidienschläuche	Mit Muskel	Serum allein
1	Normales Schafserum	—	—	—
2	„ „	—	—	—
3	Leberegel-Schafserum	—	—	—
4	„ „	—	—	—
5	„ „	—	—	—
6	„ „	—	—	—
7	Sarkosporidienserum	+	—	—
8	„ „	+	—	—
9	„ „	+	.	.
10	„ „	±	—	—

Bei der Sarcosporidiasis habe ich laut der Tabelle bei allen 4 Fällen eine positive Reaktion gegenüber Sarkosporidienschläuchen erhalten, mit den 6 von normalen oder leberegelkranken Tieren stammenden Sera war die Reaktion negativ.

Ein Muskelabbau konnte nicht festgestellt werden, was auch zu erwarten war, da es bei Sarcosporidiasis nicht zu einer Muskelzerstörung kommt.

III. Die Abderhaldensche Reaktion bei Distomiasis (Leberegelkrankheit) der Schafe.

Bei der Distomiasis der Schafe liefert der Nachweis der Distomeneier im Kot einen sicheren Beweis für die Krankheit. Die Abderhaldensche Reaktion hatte aber bei anderen ähnlichen Wurmkrankheiten, wo die Eier nicht so leicht nachweisbar sind, eine große praktische Bedeutung. Folgende Tabelle faßt die erreichten Resultate zusammen (s. Tabelle p. 348).

Bei 11 Fasciola-freien Tieren war die Reaktion mit Fasciola hepatica 5mal positiv und 6mal negativ; d. h. die Würmer wurden in einigen Fällen auch von normalem Serum abgebaut. Ob diese Abbaufähigkeit der Sera vielleicht mit der natürlichen Resistenz in Zusammenhang steht, sei dahingestellt; allerdings bekam ich bei stark infizierten Tieren (28 u. 29) eine negative Reaktion.

Da bei der Distomiasis immer eine Leberstörung zu finden ist, wurden die Sera auch auf Lebergewebe abbauende Fermente untersucht. Und zwar haben die von den kranken Tieren stammenden Sera alle eine deutliche Abbauungsfähigkeit gezeigt, während bei den von Fasciola-freien Tieren stammenden 25 Sera die Reaktion nur 2mal deutlich und 2mal angedeutet war. Ob bei diesen 4 Fällen nicht eine andere Leber-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:08 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Abderhaldensche Reaktion mit Fasciola hepatica und mit Schafleber bei normalen und kranken Tieren.

Fall	Normales Serum			Fall	Normales Serum		
	mit Fasciola	mit Leber	Serum allein		mit Fasciola	mit Leber	Serum allein
1	+	.	—	14	.	—	—
2	—	.	—	15	.	—	—
3	+	.	—	16	.	—	—
4	—	.	—	17	.	—	—
5	—	—	—	18	.	—	—
6	—	—	—	19	.	—	—
7	±	—	—	20	.	—	—
8	—	—	—	21	.	±	—
9	+	—	—	22	.	—	—
10	+	—	—	23	.	—	—
11	—	+	—	24	.	±	—
12	.	—	—	25	.	+	—
13	.	--	—				

Fall	Serum infizierter Tiere			Fall	Serum infizierter Tiere		
	mit Fasciola	mit Leber	Serum allein		mit Fasciola	mit Leber	Serum allein
26	+	+	—	31	.	+	—
27	+	+	—	32	.	+	—
28	--	+	—	33	.	+	—
29	—	.	—	34	.	+	—
30	+	+	—	35	.	+	—

krankheit die Ursache der positiven Reaktion war, konnte nicht festgestellt werden.

Da mit den Würmern die Reaktion nicht spezifisch ist, andererseits der Leberabbau für Distomiasis nicht charakteristisch ist, so kann die Abderhaldensche Reaktion hier nicht benutzt werden.

IV. Die Abderhaldensche Reaktion bei Trichinose.

„Bei lebenden Schweinen", heißt es bei Hutyra und Marek, „gelang es noch nicht, die Trichinose zu diagnostizieren, wiewohl es keinem Zweifel unterliegt, daß nach einer intensiveren Infektion sich krankhafte Erscheinungen einstellen, diese aber anderweitigen Krankheiten zugeschrieben werden." Daher wäre eine diagnostische Reaktion von größter Bedeutung. Das trichinöse Schwein kann die Krankheit ebenso verbreiten wie die kranken Ratten und Mäuse.

Zu meinen Versuchen standen nur experimentell infizierte Tiere zur Verfügung.

Die folgende Tabelle faßt die wenigen Versuche, die ich anstellen konnte, zusammen (s. Tabelle p. 349).

Aus diesen Versuchen möchte ich keine weitgehenden Folgerungen ziehen, es wurde allerdings festgestellt, daß die von trichinenkranken Tieren stammenden Sera Muskelgewebe abbauen können, und es scheint, als ob Trichinen enthaltende Muskel mehr abgebaut werden als normale. Wenn das bei weiteren Versuchen bestätigt wird, dann könnte man die Reaktion zur Diagnose benutzen. Außerdem kann man Muskelabbau

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:08 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

	Muskel von trichinöser Ratte	Muskel von normalem Kaninchen	Serum allein
1) Serum von trichinösem Kaninchen	++	+	—
2) Serum von normalem Kaninchen	—	—	—
3) Serum von trichinöser Ratte	++	+	—
4) Serum von normaler Ratte	—	—	—
5) Serum von trichinösem Kaninchen	++	.	—
6) Serum von normalem Kaninchen	—	.	—

wahrscheinlich bei den Muskelfinnen und auch bei anderen Muskelzerstörungen finden.

Zusammenfassung.

1) Mit der Abderhaldenschen Dialysiermethode ließen sich bei Benutzung von reichlich Trypanosomen enthaltenden Organen (Leber und Lunge) als Abbauorgan Fermente anscheinend trypanosomenspezifischer Art im Serum trypanosomenkranker Tiere nachweisen. Die Reaktion war eine Gruppenreaktion, d. h. nicht spezifisch für die verschiedenen Trypanosomenarten als solche.

2) Bei der Hühnerspirochätose scheint die Reaktion ebenso anwendbar zu sein.

3) Bei Sarcosporidiasis wurden die Protozoen abgebaut. Die Reaktion war spezifisch. Ein Muskelgewebeabbau war nicht nachweisbar.

4) Bei Distomiasis ist die Reaktion nicht spezifisch. Die Würmer werden teils von den normalen Sera ebenso abgebaut wie von den von kranken Tieren stammenden Sera. Das Lebergewebe wird aber nur von den von kranken Tieren stammenden Sera abgebaut, was sich ceteris paribus diagnostisch verwerten läßt.

5) Von trichinösen Tieren stammende Kaninchen- und Rattensera bauten Muskelgewebe ab, und zwar trichinöse Muskel in stärkerem Grade.

Zum Schlusse möchte ich nicht versäumen, Herrn Obermedizinalrat Prof. Dr. Nocht für die Ueberlassung eines Arbeitsplatzes und des Materials und ebenso Herrn Prof. Glage für die Beschaffung des Veterinärmaterials meinen verbindlichsten Dank auszusprechen.

Generated on 2019-09-15 15:08 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Nachdruck verboten.

Bemerkungen zu der neuesten Mitteilung Noguchis: Ueber künstliche Züchtung des Lyssavirus.

Von Prof. **Italo Giglioli.**

Da die wissenschaftliche sowie die politische Presse sich mit den neuesten kulturellen Studien Noguchis über den Erreger der Tollwut befaßt, jedoch nur in ungenügender Weise diejenigen, welche sich in letzter Zeit mit diesen Untersuchungen am meisten befaßt haben, erwähnt, ist es namentlich in Italien Pflicht, den Namen jenes Forschers nicht zu vergessen, welcher uns in dieser Hinsicht den Weg, den wir heute gehen, eröffnet hat. Ich meine den Prof. Alfonso Di Vestea, Direktor des Hygienischen Institutes der Universität in Pisa.

In seiner Schrift „Études culturales sur le virus de la rage" (Presse méd. 1913. 6. Sept.) erwähnt Dr. Hideyo Noguchi seine bedeutendsten Vorgänger in den Versuchen, den Schmarotzer der Tollwut zu isolieren und zu identifizieren; Di Vestea aber erwähnt er gar nicht, obgleich sich dieser seit 1887 mit diesen Fragen befaßt hat, und in ähnlicher Weise verfahren auch die italienischen Zeitschriften, welche die Forschungen des japanischen Gelehrten referieren.

In dem schönen, von der „Accademia dei Lincei" herausgegebenen Buche über die Fortschritte der Biologie und deren praktische Ergebnisse in dem letzten halben Jahrhundert in Italien faßt Grassi die Studien Di Vesteas über die Tollwut in folgender Weise zusammen: „Di Vestea, Schüler Cantanis und Armannis, hat mit Zagari die Möglichkeit experimenteller Infektion auf intraneuralem Wege bewiesen; da er beobachtet hatte, daß die Verbreitung des Virus längs des Zentralnervensystems und die Entwickelung des symptomatischen Bildes in ganz bestimmter Abhängigkeit von dem Sitze der Injektion vor sich gehen, ist er auf geniale Weise dazu gekommen, die verschiedenen klinischen Bilder der Tollwut zu erläutern (1889). Er hat endgültig die Filtrierbarkeit des Lyssavirus bewiesen (Bestätigungen Bertarellis, Volpinos, Cellis und De Blasis)."

Außer den von Grassi angeführten Tatsachen muß in Erinnerung gebracht werden, daß die Hypothese über die protozoische Natur des Lyssavirus schon im Jahre 1894 von Di Vestea aufgestellt worden ist[1]). „Damals (d. h. im Jahre 1894) führte ich (schreibt Di Vestea im Jahre 1895) der R. Accademia medico-chirurgica in Neapel eine Serie mikroskopischer Präparate von am N. ischiadicus infizierten Kaninchen vor, welche längs des vom Virus verfolgten Weges bis an den Lendenabschnitt des Rückenmarks das Vorhandensein von mit den normalen Elementen des Nervengewebes nicht zu verwechselnden Gebilden zeigten."

Inmitten des reaktiven Herdes des Nervenabschnittes, wo die Injektion vorgenommen wurde, sah man einzelne Nervenfasern, die in einer Er-

1) Di Vestea, Nota micrografica sulla rabbia sperimentale. (Atti d. R. Accad. med.-chir. di Napoli. 1894. 1 tav.) — Di alcune proprietà biologiche dei filtrati rabici, in confronto con le emulsioni di sostanza nervosa da cui provengono. (Ann. d'Ig. sperim. 1905. 1 fotogr.)

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:08 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

weiterung zwischen der Schwannschen Scheide und der Markscheide ein oder mehrere, eiförmige Körperchen enthalten. Diese Körperchen bestehen aus einem mit Karmin färbbaren großen Kern aus grobkörniger Substanz und besitzen einen doppelten Umriß in Form einer gar nicht oder wenig färbbaren Schale.

Die oben erwähnten, im Jahre 1887 mit Zagari und d'Abundo von Di Vestea ausgeführten Untersuchungen und die Beobachtung, daß das Lyssavirus eine entschiedene Neigung aufweist, sich systematisch längs der Nerven zum Zentralnervensystem fortzupflanzen, brachten Di Vestea auf die Folgerung, „daß ein so außerordentlich elektiver Sitz schwierig in Einklang mit den gewöhnlichen Eigenschaften der Bakterien zu bringen ist, welche sich in den kreisenden Flüssigkeiten zu verbreiten pflegen, oder sich in dem Bindegewebe vermehren, daß dagegen dieselbe Tatsache mit der Natur der protozoischen Parasiten sehr übereinstimmend ist, welche gewöhnlich vornehmlich in den edelsten Gewebselementen (rote Blutkörperchen, Epithelien, Muskelfasern, Zellen der Ovarien usw.) schmarotzen".

Die Bemühungen von 1903, die oben erwähnten eiförmigen Körperchen in den Emulsionen der nervösen rabischen Substanz zu isolieren, brachten Di Vestea zur Entdeckung der Filtrierbarkeit des Lyssavirus, welche auch später von anderen bestätigt wurde. „Nach fruchtlosen Forschungen (schreibt Di Vestea) über die Cerebrospinalflüssigkeit und das Kammerwasser versuchte ich die amikrobische Filtration, und gelangte zum tatsächlichen Beweise, daß das Lyssavirus zur Kategorie der sogenannten filtrierbaren Virus gehört."

Die Beobachtung der Filtrierbarkeit des Virus wurde zuerst im Juli 1903 von Di Vestea in Italien und von Remlinger und Riffat-Bey im Auslande bekannt gegeben. Die italienische Entdeckung wurde als gleichzeitig mit derjenigen in Konstantinopel gemachten erachtet. Berücksichtigt man aber die vielfältigen vorhergehenden Beobachtungen Di Vesteas, so scheint der Schluß gerechtfertigt, daß es sich wirklich um eine italienische Entdeckung handelt [1]).

Der ursprünglichen Entdeckung der Filtrierbarkeit fügt Di Vestea bald eine andere wichtige Beobachtung zu, indem er beweisen konnte, daß das durch Porzellankerzen filtrierte Virus bei hohen Temperaturen und dem Gefrieren weit weniger widerstandsfähig ist, als das ursprünglich unfiltrierte Virus. Um den Zweifel zu beheben, daß diese verminderte Widerstandskraft von den osmotischen Bedingungen einer sehr verdünnten, wässerigen Flüssigkeit herrühren könnte, wiederholte Di Vestea die Versuche in hypertonischen Lösungen, und auch in diesem Falle zeigte sich die Widerstandsfähigkeit des filtrierten Virus gegen höhere oder niedrigere Temperaturen herabgesetzt.

Diese Experimente bewiesen, daß durch die keimdichten Filter die weniger widerstandsfähigen Elemente des Lyssavirus durchpassieren können und bestätigen Di Vestea in seinen schon 1894 ausgesprochenen Induktionen. An der Hand eigener Experimente schrieb er: „Wenn man bedenkt, daß wir in der Bakteriologie die am meisten reduzierten Formen derselben Mikrobenart mit einer größeren Widerstandsfähigkeit ausgestattet zu betrachten gewöhnt sind, so fügt die entgegengesetzte,

1) S. die kurze Polemik über dieses Argument zwischen Remlinger, De Blasis, Di Vestea in Ann. d'Ig. sperim. 1904. pp. 599—603; 1905. p. 147.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:08 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

bei dem Lyssavirus beobachtete Tatsache den Glauben an die vorausgesetzte, nicht bakterische Natur dieses Virus hinzu und ruft den suggestiven Gedanken an die niedrige Widerstandsfähigkeit hervor, welche die jungen Formen der pathogenen Protozoen, im Vergleich zu anderen von verschiedener Reproduktionsart erzeugten zeigen."

Aus diesen Ausführungen geht ganz deutlich das besondere Verdienst Di Vesteas hervor, der durch seine vielen bahnbrechenden Beobachtungen Negri, Volpino und jetzt Noguchi den richtigen Weg für die Erforschung der Lyssavirusnatur gezeigt hat.

Literatur.

Di Vestea e Zagari, La Psichiatria. 1887.
—, Giorn. intern. d. Sc. med. 1887.
—, Fortschr. d. Med. 1889.
—, Ann. de l'Inst. Pasteur. 1889.
Di Vestea e D'Abundo, Ann. di Neurol. 1893.
Di Vestea, Sulla dottrina nervosa della rabbia. (Giorn. intern. d. Sc. med. 1890.)
—, Nota micrografica sulla rabbia sperimentale. (Atti d. R. Accad. med.-chir. di Napoli. 1894.)
—, Dei più recenti studi sopra la nature del virus rabido. (Giorn. Ital. d. Sc. med. 1903. No. 6 e 7.)
—, Sul trovato della filtrabilità del virus della rabbia. (Ann. d'Ig. sperim. 1905.)

Inhalt.

Aoki, K., Ueber den Wirkungsmechanismus des Pneumokokkenkulturfiltrates auf Meerschweinchen und Mäuse, p. 297.
Busson, Bruno, Ueber Paragglutination, p. 328.
Giglioli, Italo, Bemerkungen zu der neuesten Mitteilung Noguchis: Ueber künstliche Züchtung des Lyssavirus, p. 350.
Gózony, L., Die Abderhaldensche Reaktion bei protozoischer und metazoischer Parasiteninfektion, p. 345.
Katsurada, F., Studien über Trematodenlarven bei Süßwasserfischen, mit besonderer Berücksichtigung der Elb- und Alsterfische, p. 304.
Koenigsfeld, Harry, Ueber Versuche zur Immunisierung gegen Mäusekrebs, p. 316.
Konrádi, Daniel, Die Vererbung der Wut, p. 287.
Manoiloff, E., Weitere Untersuchungen über chronischen Alkoholismus und Anaphylaxie, p. 314.
Rosenow, E. C., Wechselseitige Mutation von Pneumokokken und Streptokokken, p. 284.
Toenniessen, Erich, Ueber Vererbung und Variabilität bei Bakterien mit besonderer Berücksichtigung der Virulenz, p. 241.
Twort, F. W. and **Ingram, G. L. Y.,** Further experiments on the biology of Johne's bacillus, p. 277.

Die Herren Mitarbeiter werden höflichst gebeten, bereits fertiggestellte Klischees — falls solche mit den Manuskripten abgeliefert werden — nicht der Redaktion, sondern direkt der Verlagsbuchhandlung Gustav Fischer in Jena einzusenden.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:08 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Centralbl. f. Bakt. etc. I. Abt. Originale. Bd. 73. Heft 6.
Ausgegeben am 25. April 1914.

Nachdruck verboten.

Recherches sur l'étiologie du rhumatisme polyarticulaire aigu.

[Travail de la II[ème] Clinique médicale de l'hôpital Brancovan (Prof. Buicliu) et du Lab. de Médecine expérimentale (Prof. J. Cantacuzène).]

Par **D. Daniélopolu,**
Chef de Clinique à la Faculté de Médecine de Bucarest.
Assistant au Laboratoire de Médecine expérimentale.

Avec 1 planche.

Au cours des recherches que nous entreprenons depuis quelque temps sur l'étiologie du rhumatisme polyarticulaire aigu nous avons trouvé un fait qui nous parait intéressant à signaler. Il s'agit de certaines formes microbiennes que nous avons trouvées dans l'examen direct sur lame colorée d'un liquide articulaire dans un cas de rhumatisme polyarticulaire aigu classique.

Voici en quelques mots l'histoire clinique du malade.

S. R., 17 ans. Premier accès de rhumatisme il y a deux ans, dont il guérit à la suite d'un traitement salycilé. Il entre dans le service dans un nouvel accès de rhumatisme qui a commencé 6 jours avant. Presque toutes les articulations ont été prises tour à tour. Au moment de l'entrée du malade dans le service les deux articulations tibio-tarsiennes et celles des deux genoux présentaient une tuméfaction prononcée et très douloureuse. Signes manifestes de liquide en assez grande quantité dans les deux genoux. Température 39.

Pas d'urétrite blénnorragique.

Le malade est laissé 48 heures sans aucun médicament, intervalle pendant lequel nous avons fait nos recherches. Les phénomènes articulaires sont restés stationnaires pendant ce temps et la température s'est maintenu entre 38 et 39 degrés. Nous administrons à partir du troisième jour quotidiennement 8 grammes de salycilate de soude. Les phénomènes articulaires commencent à diminuer le lendemain même et disparaissent 4 jours après le début de ce traitement. La température est tombée en deux jours au dessous de 37.

Ainsi donc, il s'agit d'un accès de rhumatisme polyarticulaire aigu classique, dans lequel le salycilate eut une action des plus démonstratives.

Liquide articulaire. La ponction pratiquée des deux cotés dans l'articulation du genou laisse sortir une dizaine de cm. cubes d'un liquide trouble, floconneux, qui se coagule très vite. Ce produit nous a servi pour l'examen sur lame, pour des ensemencements sur milieu aérobies et anaérobies et pour les inoculations. Nous ne parlerons dans cette note que des constatations faites sur les frottis.

Examen des frottis. (Fixation à l'alcool méthylique, coloration au liquide de Giemsa.) Nous trouvons des leucocytes polynucléaires en grand nombre, quelques mononucléaires et des cellules endothéliales. En dehors de ces éléments cellulaires nous avons trouvé certaines formations qui sont sans aucun doute des éléments microbiens. La figure No. 1 représente un frottis articulaire coloré au Giemsa une heure à froid (Immersion $^1/_{12}$; oculaire comp. 12). Nous voyons dans cette figure

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:08 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

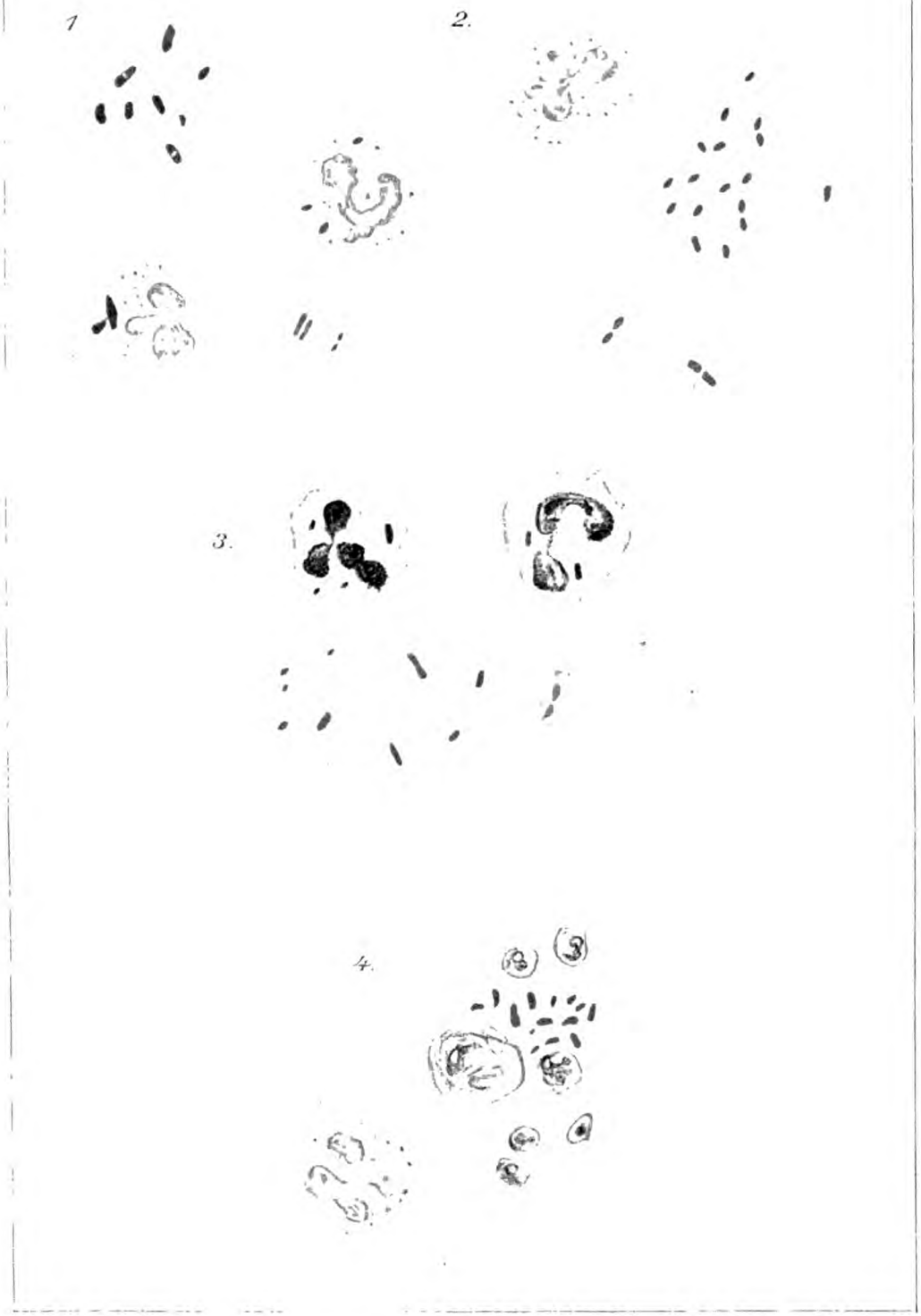
en dehors des leucocytes polynucléaires colorés en violet, des formes bactériennes qui se colorent en bleu. Ce sont, la plupart, des bacilles assez gros, à bout carré ou arrondi, entourés quelquefois d'un espace clair; quelques-uns d'entre eux présentent un commencement de division. Il existent en outre dans nos frottis des formes plus petites, ovalaires, présentant les mêmes caractères de coloration et le même espace clair tout autour. Ces formes petites sont plus nombreuses dans la figure No. 2. Entre la forme petite et la grande nous trouvons une série d'éléments de transition, ce qui nous fait supposer que les deux variétes appartiennent au même microorganisme. C'est surtout dans la figure No. 3 (frottis articulaire fixé à l'alcool méthylique et coloré au bleu de toluidine phéniqué), qu'on aperçoit mieux la transition entre la forme petite et la grande. De place en place ces éléments microbiens se disposent en diplobacilles (fig. 2 et 3) entourés d'un espace clair. Les microorganismes décrits plus haut sont assez rares dans les frottis, et c'est seulement en examinant un grand nombre de lames que nous avons pu découvrir quelques groupes comme ceux déssinées dans les figures ci-jointes. La plupart sont extra-cellulaire, mais on trouve aussi des éléments de la variété petite ou grande dans les leucocytes polynucléaires (fig. 1 et 3), ou très rarement dans les cellules endothéliales. Nous avons trouvé en outre des groupes d'éléments assez irréguliers comme forme et variables comme dimensions, qui se colorent de même en bleu par le Giemsa et qui peuvent être des formes de dégénérescence (fig. 4).

Nous ferons connaître dans des notes ultérieures les résultats des recherches que nous sommes en train de faire sur cette question.

Ce qui nous paraît intéréssant dans ces recherches, c'est que nous avons trouvé ce microorganisme par l'examen direct sur frottis et dans l'exsudat articulaire même, c'est à dire dans une région où une infection secondaire serait peu admissible, chez un malade qui présentait les symptomes classiques du rhumatisme polyarticulaire aigu et chez lequel l'action du salycilate de soude — médicament spécifique de cette maladie — a eu une action des plus manifeste.

Le 2 Février 1914.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:12 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google



Verlag von Gustav Fischer in Jena. Lith. Anst. v. A. Giltsch, Jena.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:12 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Generated on 2019-09-15 15:12 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Digitized by Google

Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

Nachdruck verboten.

Contribution à l'étude du Bacterium salmonicida.

[Laboratoire Cantonal du Service Sanitaire, Lausanne
(Directeur: Prof. C. Arragon).]

Par **M. Bornand.**

De nombreux expérimentateurs ont étudié la bactérie provoquant la furonculose de la truite, et tous ont créé de nouvelles variétés de Bact. salmonicida. Plehn[1]) désigne la forme étudiée par Emmerich et Weibel comme le Bact. salmonicida A; elle même en isole une qu'elle désigne sous la forme B; Marsh[2]) en avait décrit une autre sous la dénomination de Bact. truttae et se rapprochant d'après ses caractères culturaux aux formes A et B. Fehlmann[3]) enfin en étudiant une bactérie immobile isolée d'une truite furonculeuse, se demande s'il n'est pas en présence d'une nouvelle forme C, car cultivée sur un agar au bouillon de truite elle devient mobile.

Ce dernier auteur heureusement est venu mettre un peu de clarté au point de vue du groupe auquel cette bactérie doit appartenir.

Fehlmann la considère comme très rapprochée du Bact. fluorescens, et elle présente comme les bactéries de ce groupe la particularité d'être extrêmement variable.

En effet, en examinant les caractères culturaux des Bact. salmonicida A et B, du Bact. truttae, on constate que ces bactéries ont des caractères culturaux spécifiques et communs, mais qu'ils peuvent varier suivant le milieu dans lequel ils sont cultivés et suivant leur origine. C'est ainsi que d'après Plehn, cultivé sur agar, il donnerait des formes courtes, tandis que sur gélatine ou in vivo, les formes seraient plus allongées.

Tous ces caractères parlent bien en faveur de la constatation de Fehlmann qui place toutes ces formes de Bact. salmonicida dans le même groupe et se rattachant à celui du Bact. fluorescens liquefaciens et non liquefaciens.

Dans le courant de l'été dernier j'ai eu l'occasion d'examiner une série de truites atteintes de furonculose, provenant principalement de la Venoge (Canton de Vaud) et de l'Aar (Canton de Berne); ces dernières ont été prises vivantes dans le vivier d'un marchand de comestibles de Lausanne et présentaient de gros furoncles ayant des dimensions de 1 cm à celles d'une pièce de 5 francs.

De toutes ces truites je fis l'isolement d'une bactérie présentant les caractères suivants:

Au point de vue morphologique, elle se présentait soit dans les abcès des furoncles, soit dans le sang comme de petits bâtonnets trapus, assez épais immobiles mesurant de 1,6 à 2,7 μ; en général il y avait peu de formes courtes mais ses dimensions étaient assez égales.

Cultivée sur Ragit-agar de Merck, ou sur agar au bouillon de Liebig, sur gélatine ou dans le bouillon elle changeait complètement

1) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 60. 1911. p. 607.
2) Cité par Plehn, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 60. 1911. p. 622.
3) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 70. 1913. p. 384.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:12 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

de forme; je n'avais plus en présence qu'une majorité de bactéries à peine plus longues que larges et ressemblant à des microcoques; il y avait cependant quelques formes allongées, mais très rares; la dimension de cette bactérie dans ces différents milieux de culture était de 0,7 à 1,4 μ, la moyenne 0,9 à 1,2 μ.

Cultivée sur agar au bouillon de truite préparé d'après la formule de Fehlmann la morphologie de cette bactérie changeait, au lieu de courts bâtonnets ayant presque la forme de microcoques qu'elle présentait dans les milieux précédents, sur agar au bouillon de truite elle reprenait la forme de bâtonnets assez semblables comme grandeur à ceux observés dans les furoncles ou dans le sang; ils mesuraient 0,7 à 2 μ, la moyenne 1,7 μ.

Sur ce dernier milieu de culture j'ai constaté qu'elle était mobile mais je ne suis pas arrivé à colorer les cils utilisant les méthodes de de Rossi et Harrisson.

Cette bactérie se colorait bien par les couleurs d'aniline et ne prenait pas le Gram.

Elle se développait à toutes les températures comprises entre 4° et 37°, à ces deux températures, le développement était peu abondant; son optimum était 18 à 20°.

Comme Plehn et Fehlmann l'ont démontré, une légère acidité du milieu de culture gêne ou entrave complètement son développement.

Dans 10 c.c. d'agar neutre j'ajoutais 0,03 g et 0,026 g d'acide lactique, j'ensemençais la bactérie mais je n'observais aucun développement; avec 0,013 g qui donnait à l'agar une réaction faiblement acide au papier tournesol la culture était extrêmement grêle.

Au contraire l'alcalinité, jusqu'à 2,6 % de Na_2CO_8 normal, favorise le développement.

En bouillon elle ne produisait qu'un voile à la surface ou croissait le long des parois de l'éprouvette mais sans que le bouillon devint trouble; dans l'eau peptonée j'ai observé la même chose. Elle ne donnait pas d'indol.

Le lait était lentement coagulé; la gélatine en tubes était liquéfiée lentement; sur gélatine en plaque de Petri, les colonies étaient petites, transparentes, ressemblant aux colonies de B. fluorescens, après deux jours elles s'enfonçaient dans la gélatine et la liquéfaction était complète entre le 2e et 4e jour.

Le sérum était liquéfié en 3 à 5 jours; la fermentation du glycose était assez abondante. Sur pomme de terre développement lent et peu abondant; il importe ici que la pomme de terre ne soit pas acide, j'ai constaté qu'une légère acidité entrave la culture, phénomène que Plehn a démontré.

C'est sur agar préparé avec de la poudre de Ragit-agar de la maison Merck ou préparé avec du bouillon de Liebig que j'ai obtenu le développement le plus caractéristique.

En faisant l'ensemencement sur agar incliné, j'obtenais après le deuxième jour une coloration jaune de l'agar et jaunâtre de la culture; cette coloration devenait plus foncée les jours suivants et en moyenne après le 4e jour la culture était brune et après 8 à 10 jours elle était brun-noire pour devenir ensuite presque noire.

Les auteurs qui ont étudié le Bact. salmonicida notent aussi cette coloration brune du milieu de culture; Plehn l'a observée sur bouillon et gélatine et constaté qu'elle apparaissait après deux semaines

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:12 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

quelquefois avant; sur agar elle était plus tardive et pas aussi foncée; pour ma part c'est le contraire que j'ai observé c'est à dire très rapide sur agar et très faible ou même nulle sur gélatine et bouillon.

J'ai constaté comme Fehlmann que cette coloration brune était soluble dans l'eau, insoluble dans l'alcool, l'éther et le chloroforme.

La résistance à la chaleur de la bactérie que j'ai isolée est plus élevée que le Bact. salmonicida B. Chauffée pendant 8 minutes à 40°, elle se développe encore, elle est tuée après 5 minutes à 45°.

Après 12 jours de séjour dans l'eau stérilisée, elle se développe encore.

J'ai fait une série d'inoculations avec cette bactérie dans le muscle de la région caudale de Trutta fario et j'ai pu constater comme Plehn que le jour de l'injection il se forme une légère coloration dans la région du point inoculé, le lendemain, un commencement d'enflure apparaissait qui grossissait rapidement; le troisième jour le furoncle était formé et quelquefois s'abcédait déjà; si la truite était assez résistante, de nouveaux furoncles apparaissaient dans le voisinage du premier.

Le poisson respirait rapidement, se tenait dans un coin de l'aquarium et se laissait facilement prendre avec la main.

En général, la mort arrivait en trois à six jours après l'injection.

A l'autopsie, il sortait des furoncles un pus sanguinolent, la musculature semblait comme dissoute et remplie de bactéries.

Conclusions.

Il résulte des expériences que je viens de décrire:

1° Que la bactérie que j'ai isolée de truites furonculeuses est bien le Bact. salmonicida.

2° Que ses caractères culturaux et morphologiques la font bien rentrer comme Fehlmann l'a démontré, dans le groupe du Bact. fluorescens.

Je remercie Monsieur le Prof. Dr. B. Galli-Valerio, Directeur de l'Institut d'Hygiène et de Parasitologie de l'Université de Lausanne, pour les conseils et indications qu'il m'a donné au cours de cette étude.

Lausanne, 15 janvier 1914.

Generated on 2019-09-15 15:12 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Nachdruck verboten.

Hämatoparasitologische Notizen.

[Aus dem Kaiserl. Institut für experimentelle Medizin zu St. Petersburg (Abteilung: A. A. Wladimiroff).]

Zweite Mitteilung[1]).

Von **N. N. Nawrotzky.**

Mit 1 Tafel.

I. Trypanosoma des Hechtes.

(Tafelfig. 1 und 2.)

Als erster beobachtete Remak (1) diesen Parasiten im Blute des Hechtes, und ihm zu Ehren wurde er Trypanosoma Remaki genannt (Laveran u. Mesnil 1901). Nach ihm sahen denselben mehrere Forscher: Berg (2), Creplin (3), Danilewski (4), Schalaschnikoff (5) u. a. Man unterscheidet 2 Varietäten desselben, var. parva und var. magna.

Das Trypanosoma Remaki var. parva ist charakterisiert durch schwache Färbbarkeit des Protoplasma, während Kern und Centrosoma sich intensiv violett färben. Der ovale Kern liegt mehr nach vorn und besteht aus einzelnen Chromatinkörnern. Das Centrosoma ist rund und klein. Die Geißel entspringt vom Centrosoma. Die Membran ist wenig gefaltet. Die Dimensionen des Parasiten sind folgende: Die Länge des Körpers (inkl. Geißel) 28—30 μ, ohne Geißel 15—20 μ, die Breite 1,4 μ. Die Var. magna unterscheidet sich von der eben genannten durch stärkere Färbbarkeit des Protoplasma (in hellblau) und durch ihre Dimensionen: Länge (inkl. Geißel) — Minimum 45 μ, ohne Geißel 26—28 μ, Breite 2—2,5 μ.

Im Sommer 1912 wurde von mir zufällig dieses Trypanosoma im Blute eines im Fluß Woimiga (in Gawriloff-Possad, Gouvernement Wladimir) gefangenen Hechtes gefunden. Seine Dimensionen sind: Die Länge (ohne Geißel) 35—39,2 μ (meist 36,5 μ), die Breite 2,1—2,8 μ (meist 2,8 μ), die Länge des Kerns 2,8—4,9 μ (meist 3,5 μ), die Breite des Kerns 1,4—2,1 μ (meist 2,1 μ); bei rundem Kern ist dessen Durchmesser 2,1 μ; die Länge des Centrosoma 0,3—1,2 μ; die Strecke vom hinteren Körperende bis zum Centrosoma 0,7 μ, vom Centrosoma bis zum Kern 18,6—20,7 μ, vom Kern bis zum vorderen Körperende 9,8—12,9 μ (meist 12,9 μ); die Länge der Geißel 10—20 μ.

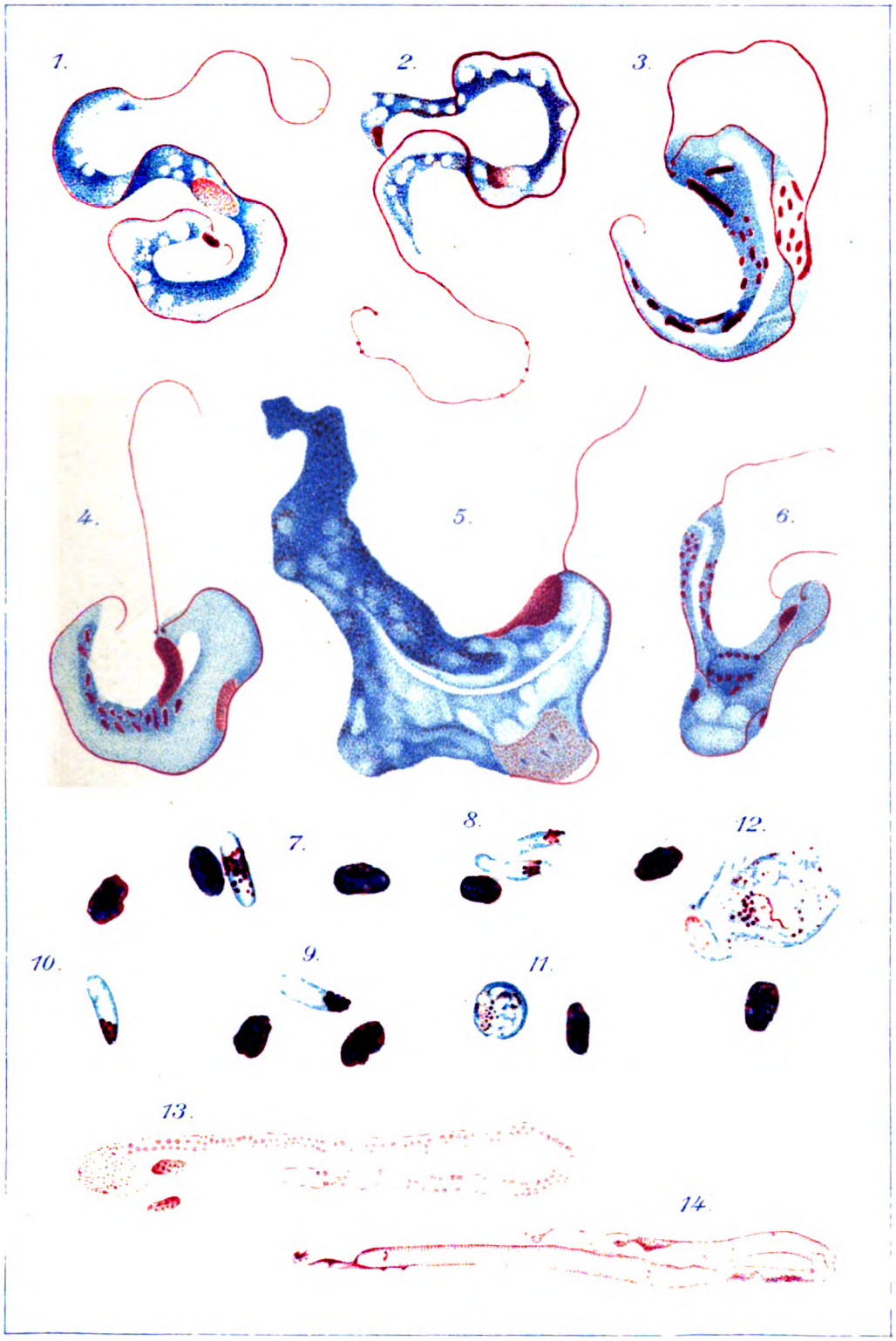
Der Vergleich der Dimensionen des von mir gefundenen Trypanosoma mit den Daten anderer Autoren läßt annehmen, daß dieses Trypanosoma zu der großen Varietät des Hechtparasiten — Tr. Remaki var. magna — gehört.

Von Interesse wäre es gewesen, die Ausbreitung dieser Infektion unter den Hechten jener Gegend zu verfolgen; leider fehlte jedoch dazu die Gelegenheit.

Bei einem Exemplar dieses Trypanosoma beobachtete ich außer der Geißel, die am Rande der Membran verläuft und frei am hinteren Körperteil endet, noch eine zweite, freie Geißel von geringer Dimension, die dem vorderen Körperende entspringt (Fig. 1). Sie ist dünner als

1) Conf. Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 55. 1910.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:12 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google



Verlag von Gustav Fischer in Jena

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:12 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Generated on 2019-09-15 15:12 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Digitized by Google

Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

die erstere und erinnert an jene fadenförmigen Gebilde, welche Prof. Schepilewsky (6) an lebenden Präparaten von Tr. naganae und Tr. equiperdum gefunden hat.

II. Trypanoplasma des Hechtes.

(Tafelfig. 3—6.)

Im Blute desselben Hechtes, bei dem sich die soeben beschriebenen Trypanosomen fanden, konnte ich noch zwei Parasiten beobachten: Trypanoplasmen und Hämogregarinen.

Die Trypanoplasmen (Familie der Trypanoplasmiden) haben einen kurzen, sichelförmig gebogenen Körper, der vorne breit ist und nach hinten sich allmählich verengt; auf der konvexen Seite besitzen sie eine undulierende Membran; der ovale oder längliche Kern liegt in der Mitte am konvexen Rande, oft näher zum vorderen Körperende. Auf der konkaven Seite, ganz nahe am vorderen Körperende, liegt das Centrosoma, das die Form eines langen Stäbchens oder einer in die Länge gezogenen Birne besitzt. Vor diesem liegen zwei Basalkörperchen, von denen zwei Geißeln entspringen (je eine von jedem Körperchen); die eine, hintere, verläuft am Rande der Membran und endet frei am hinteren Körperende; die zweite, vordere, zuweilen ebenso lang wie der ganze Körper des Parasiten, ist in ihrem ganzen Verlaufe frei.

Im Blute des Hechtes ist das Trypanoplasma zuerst in Norfolk von Minchin (7) entdeckt und von ihm Trypan. Gurneyorum benannt worden. Er fand es fast immer zusammen mit Trypanosoma Remaki. Nach Minchin hat dasselbe Trypanoplasma auch Keysselitz (8) beim Hechte gefunden.

Trpl. Gurneyorum gibt es in zwei Varietäten, welche Minchin als einfache und als große Form des Parasiten unterscheidet. Letztere findet sich selten und fällt durch große Dimensionen und (bei Giemsa-Färbung) durch so starke Tingierung des Protoplasmas auf, daß sogar die Kernfärbung verdeckt wird. Im Körper des Trpl. Gurneyorum, mehr im hinteren Teile desselben, als im vorderen, sind ziemlich große Granula zerstreut, welche Chromatinfärbung annehmen.

Die Messungen des Trypanoplasma ergaben mir folgende Zahlen: Länge des Körpers 15,4—18,9 μ (meist 18,2 μ), Breite 2,8—7,7 μ (meist 7,0 μ), die Länge des Kerns 4,9—7,0 μ (meist 5,6 μ), die Breite des Kerns 2,1—3,5 μ (meist 2,8 μ), die Länge des Centrosoma 2,1—5,4 μ (meist 2,8 μ), die Breite des Centrosoma 0,7—1,4 μ (öfter 0,7 μ), die Länge der vorderen Geißel 9,1—15,4 μ, die Länge des freien Teils der hinteren Geißel 2,1—6,3 μ.

Somit gehört dieser Parasit zur gewöhnlichen Form des Hecht-Trypanoplasma (Fig. 3 u. 4).

Außerdem hatte ich auch Gelegenheit, die großen Formen zu beobachten (Fig. 5). Ihre Länge betrug 42 μ, ihre Breite 11,2 μ. Abgesehen von den Dimensionen und von der starken Tingierbarkeit des Protoplasmas, unterscheiden sie sich durch nichts von der gewöhnlichen Form.

Es sei noch bemerkt, daß im Körper sowohl der großen als auch der gewöhnlichen Trypanoplasma-Form sich ein schmaler Längsstreifen beobachten läßt, welcher keinen Farbstoff annimmt.

Endlich begegnete ich in denselben Präparaten einem eigenartig geformten Trypanoplasma (Fig. 6), in welchem ich das Bild eines Teilungsstadiums zu sehen geneigt bin.

Generated on 2019-09-15 15:12 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

III. Hämogregarine des Hechtes, n. sp.

Außer den soeben beschriebenen Trypanosomen und Trypanoplasmen fand ich bei demselben Hecht in seinen Blutkörperchen noch eine Hämogregarine. Sie hat einen länglichen Körper von 3,5—7,0 μ (meist 5,6 μ) Länge und 1,4—2,8 μ (meist 2,1 μ) Breite. Er färbt sich schwach blau; sein Kern besteht aus einzelnen Chromatingranula und liegt gewöhnlich in der Mitte, seltener an einem der Körperenden. Zahlen über die Dimensionen dieser Granula lassen sich nicht angeben. Es ist mir nicht gelungen, Teilungsfiguren dieses Parasiten zu beobachten. Die Zahl der in einem Erythrocyten vorkommenden Hämogregarinen schwankte zwischen 1 und 6. Die Blutkörperchen schienen von der Gegenwart der Parasiten nicht gelitten zu haben. Der Prozentsatz der infizierten Erythrocyten war sehr unbedeutend. Freie Hämogregarinen, außerhalb der Blutkörperchen, konnte ich nicht beobachten.

Soviel mir bekannt, ist beim Hecht bisher eine Hämogregarine noch nicht beobachtet worden; ich schlage vor, sie als **Haemogregarina esocis** zu bezeichnen.

Beiläufig habe ich die Erythrocyten des Hechtes gemessen und folgende Dimensionen gefunden:

Länge	9,1—11,2 μ	(meist 9,8 μ)
Breite	6,3— 8,4 μ	(„ 7,0 μ)
Länge des Kerns	3,5— 4,9 μ	(„ 4,2 μ)
Breite „ „	2,1— 2,8 μ	(„ 2,8 μ)

IV. Hämogregarine des Sterläds (Acipenser ruthenus), n. sp.

(Tafelfig. 7—12.)

Gelegentlich der Untersuchung eines Blutausstriches vom Sterläd bemerkte ich in seinen Erythrocyten einen Parasiten, welcher sich bei genauerer Betrachtung als Hämogregarine erwies. Sie stellt einen länglichen Körper dar von 5,7—8,55 μ (meist 7,6 μ) Länge und 1,9—2,85 μ (meist 1,9 μ) Breite; an einem Ende ist sie abgerundet, am anderen leicht zugespitzt. Ihr Protoplasma färbt sich nach Giemsa schwach blau. Der Kern ist nicht kompakt, sondern besteht aus einem Konglomerat einzelner Chromatinkörner; er liegt bisweilen in der Mitte des Körpers, häufiger aber näher dem zugespitzten Ende desselben. Außer dem Kern, und von diesem getrennt, kommen noch einige Chromatinkörner im Protoplasma des Parasiten zerstreut vor. Gewöhnlich liegt in einem Erythrocyten nur ein Parasit eingeschlossen; selten kann man deren zwei antreffen (Fig. 8), mehr aber als zwei habe ich nicht zu Gesicht bekommen. Sehr selten finden sich die Hämogregarinen auch außerhalb der Blutkörperchen (Fig. 9). Einmal sah ich eine Hämogregarine in einem kernlosen Erythrocyten (Fig. 10).

Neben den soeben beschriebenen, normal geformten Hämogregarinen fanden sich im Blute desselben Sterläds noch zwei Gebilde außerhalb der Erythrocyten gelegen. Das eine (Fig. 11) war rund, etwa 3mal kleiner als ein Erythrocyt, färbte sich bläulich und besaß Chromatineinschlüsse; das andere (Fig. 12), bedeutend größere, von unregelmäßiger Gestalt, färbte sich ebenso wie das erstere, nur etwas schwächer, besaß einen deutlichen Kern und massenhaft zerstreute Chromatinpünktchen, von denen einige durch einen roten Faden verbunden zu sein schienen. Eine Erklärung für diese Gebilde konnte ich nicht finden und nur die Vermutung fassen, daß es sich vielleicht um irgendwelche besondere Teilungsstadien derselben Hämogregarine handelt.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:12 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Die Hämogregarine des Sterläds ist bisher noch nicht beschrieben worden; ich proponiere, ihr die Bezeichnung **Haemogregarina ascipenseris** zu geben.

Um eine bessere Vorstellung von der Größe der hier beschriebenen Hämogregarine zu erhalten, habe ich die Erythrocyten des Sterläds vermessen und folgende Zahlen erhalten:

Länge des Erythrocyten	11,4—13,3 μ	(meist	11,4 μ)
Breite „ „	7,6— 9,5 μ	(„	9,5 μ)
Länge des Kerns	4,2— 5,6 μ	(„	4,9 μ)
Breite „ „	2,8— 4,2 μ	(„	2,8 μ)

V. Filaria des weißen Reihers, n. sp.

(Tafelfig. 13 und 14.)

Bei der Obduktion des Kadavers eines aus dem St. Petersburger Zoologischen Garten stammenden weißen Reihers (Ardea alba) stießen wir im rechten Herzen auf das Vorhandensein kleiner Würmchen, welche sich bei näherer Untersuchung als Filarien erwiesen. Wir untersuchten danach Ausstriche aus dem Blute verschiedener Gefäße, färbten sie nach Giemsa und fanden darin eine ziemlich große Anzahl von Filaria-Embryonen. Auf den Ausstrichen haben sie das Aussehen langer, nur wenig gewundener Würmchen (Fig. 13); sie bilden keine Spiralen, besitzen eine deutliche, meist blaß rosa gefärbte Scheide, welche zuweilen Querstreifung aufweist (Fig. 14); der stark gefärbte, körnige Leib hat ein stumpfes und ein spitzes Ende. Die Scheide ist stets bedeutend länger als der Leib und nimmt bei einzelnen Exemplaren keine Farbe an.

Die Dimensionen der Embryonen sind folgende:

Länge des Körpers	145,6—182,0 μ	(meist	150,0 μ)
Breite „ „	3,5— 6,3 μ	(„	4,9 μ)
Länge der Scheide	161,0—225,4 μ	(„	190,0 μ)
Breite „ „	4,9— 8,4 μ	(„	6,6 μ)

Die Dimensionen der Erythrocyten des weißen Reihers sind folgende:

Länge des Erythrocyten	14,0—18,2 μ	(meist	15,4 μ)
Breite „ „	8,4— 9,8 μ	(„	8,4 μ)
Länge des Kerns	7,0— 9,1 μ	(„	8,4 μ)
Breite „ „	2,8— 4,2 μ	(„	2,8 μ)

Die Filaria des weißen Reihers ist meines Wissens noch nicht beobachtet worden; ich möchte für sie die Bezeichnung **Filaria ardeae** vorschlagen.

VI. Microfilaria der Saatkrähe.

Der Parasit ist schon lange bekannt und von vielen Forschern beobachtet worden. Unsere zufällige Begegnung mit ihm im Gouvernement Wladimir (Sommer 1912) hat daher höchstens geographisch-statistisches Interesse.

Die Dimensionen des Parasiten sind folgende:

Länge des Körpers	75,79—127,27 μ	(meist	92,95 μ)
Breite „ „	2,86— 5,0 μ	(„	4,29 μ)
Länge der Scheide	91,52—145,86 μ	(„	107,25 μ)
Breite „ „	4,29— 5,72 μ	(„	5,0 μ)

Die Dimensionen der Erythrocyten der Saatkrähe sind folgende:

Länge der Erythrocyten	12,0 —15,0 μ	(meist	12,0 μ)
Breite „ „	6,0 — 7,5 μ	(„	7,5 μ)
Länge des Kerns	4,5 — 6,0 μ	(„	6,0 μ)
Breite „ „	2,25— 3,0 μ	(„	3,0 μ)

Generated on 2019-09-15 15:12 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Literatur.

1) Remak, Canstatts Jahresber. 1842 (zit nach Laveran u. Mesnil 1913).
2) Berg, Hämatozoen des Hechtes. (Arch. skandinav. Beitr. z. Naturgesch. 1845; [zit. nach Laveran u. Mesnil.])
3) Creplin, Remarques à la suite de la communication de Berg (zit. nach Laveran u. Mesnil).
4) Danilewsky, Biolog. Centralbl. 1885.
5) Schalaschnikoff, Untersuchungen über Blutparasiten. Charkoff 1888. (Russisch.)
6) Schepilewsky, Sitzungsber. d. Naturforscherges. d. Kaiserl. Dorpat. Universität. Bd. 20. Lief. 3—4. (Russisch.)
7) Minchin, E. A., Quart. Journ. microsc. Sc. Vol. 52; Proceed. of the Zoolog. Soc. of London. 1909 (zit. nach Laveran u. Mesnil).
8) Keysselitz, G., Arch. f. Protistenk. Bd. 7. 1906.

Nachdruck verboten.

A comparative study of the intestinal flora of white rats kept on experimental and ordinary mixed diets[1]).

[From the Sheffield Laboratory of Bacteriology and Hygiene, Yale University.]

By **Leo F. Rettger** and **George D. Horton.**

In spite of the abundance of literature which has accumulated since Escherich's early publication[2]) bearing on the subject, our knowledge of the role that bacteria play in the processes of digestion and nutrition is still in a most unsatisfactory state.

If we accept the recent results and conclusions of Cohendy[3]) as final, the question as to whether or not bacteria are necessary for the intestine to carry on its normal function is solved, at least in so far as young chicks are concerned. This investigator has apparently proven, in a most elaborate and painstaking experiment, that life without bacteria is not only possible, but that chicks which are hatched and reared under conditions of absolute asepsis offer more resistance to injury from cold, humidity, thirst and hunger than those which are bacterium-free. Cohendy's results are in a large measure substantiated by the earlier observation of Metchnikoff[4]) that the intestine of the fruit-eating bat (roussette) is at times practically free from bacteria. They are also in perfect accord with the well-known work of Nuttall and Thierfelder[5]) who experimented with young guinea pigs.

The weight of evidence, therefore, seems to be against Schottelius[6]), Levin[7]), Bogdanoff[8]) and others who have held the view that life

1) This investigation was made possible by the aid of the Connecticut Agricultural Experiment Station and the Carnegie Institution of Washington, and through the friendly co-operation of Dr. T. B. Osborne and Prof. L. B. Mendel.

2) Escherich, Die Darmbakterien des Neugeborenen und des Säuglings. (Fortschritte d. Med. Bd. 3. 1885. No. 16 u. 17.)

3) Cohendy, Ann. de l'Inst. Pasteur. T. 26. 1912. p. 106—137.

4) Metchnikoff, Weinberg, etc., Ann. de l'Inst. Pasteur. T. 23. 1909. p. 937—978.

5) Nuttall and Thierfelder, Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 21 u. 22. 1895—1896.

6) Schottelius, Arch. f. Hyg. Bd. 42. 1902. p. 48—71.

7) Levin, Ann. de l'Inst. Pasteur. T. 13. 1899. p. 558—567.

8) Bogdanoff, cited by Metchnikoff.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:12 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

without bacteria is impossible. The conclusion can not be drawn, however, that microorganisms play no part in physiological economy.

The harmful action of well-known organisms like the bacillus of typhoid fever and the spirillum of asiatic cholera needs little comment here; but the more subtile and complicated processes which take place in the intestine, and in which bacteria that are regarded as being void of pathogenic properties are supposedly involved, are but little understood. Renewed attention has been given in recent years to this particular field, but with comparatively little success.

It has been demonstrated repeatedly that the intestinal tract of the new-born infant is absolutely free from bacteria, but that very soon after birth microbic invasion occurs, and the intestine becomes a veritable culture tube. Tissier[1]) has divided the period which elapses between the time of birth and the establishment of a permanent flora in the normal breast-fed infant into the following three phases; 1) the aseptic phase; 2) the phase of increasing infection, and 3) the phase of gradual transformation which leads up to the final permanent or milk phase.

In the breast-fed infant a permanent flora is established which is characterized by the great preponderence of one particular organism, Bacillus bifidus of Tissier; whereas, the feces of bottle-fed infants contain a more varied and less constant flora. A mixed diet of milk and other staple foods causes a more profound change than does cow's milk alone. The conclusion has been drawn, therefore, that diet to a large extent determines the character of the intestinal microorganisms. The observations of Tissier have in the main been confirmed by Passini[2]), Rodella[3]), Moro[4]) and others.

Besides B. bifidus, an organism resembling it in certain respects, and designated B. acidophilus, was found by Moro[4]) to be a constant inhabitant of the intestinal tract of breast-fed children. Rodella[3]) and Cahn[5]) made similar observations. Tissier claims to have found this bacillus in the feces of artificially nourished infants only. Other organisms which, according to Moro, are constant inhabitants of the intestine of normal breast-fed children are the following; B. coli and B. lactis aërogenes, an intestinal streptococcus, a spore-bearing bacillus called by Moro "Köpfchenbakterium", and a member of the butyric acid bacillus group (B. perfringens). Less common are the white staphylococcus, intestinal diplococci, B. putrificus, B. exilis of Tissier, Sarcina and yeasts.

That diet plays an important part in determining the bacterial flora of the intestine appears quite probable; yet, there are certain so-called "obligate" inhabitants of the intestinal tract which even extreme changes in diet will not displace permanently, as for instance B. coli, as Lembke[6]) has shown. When, in Lembke's experiments, a bread diet was changed to one of meat, the number of colon bacilli was greatly decreased, and other microorganisms appeared very prominent; eventually the colon bacillus was restored again to its full prominence, during a continued diet of meat.

1) Tissier, Ann. de l'Inst. Pasteur. T. 19. 1905. p. 109.
2) Passini, Jahrb. f. Kinderheilk. N. F. Bd. 57. 1903. p. 87—92.
3) Rodella, Ann. de l'Inst. Pasteur. T. 19. 1905. p. 404—410.
4) Moro, Jahrb. f. Kinderheilk. Bd. 52. 1900. p. 38—55; Bd. 61. 1905. p. 687—734.
5) Cahn, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. 30. 1901. p. 721—726.
6) Lembke, Arch. f. Hyg. Bd. 26. 1896. p. 293—328; Bd. 29. 1897. p. 304—353.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:12 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Abnormal bodily conditions, and especially derangement of the gastro-intestinal tract, influence to a very great extent the character of the intestinal flora, as has been shown repeatedly, especially in children (Tissier, Metchnikoff, Sittler). There is always the question, of course, as to whether the pathological condition of the intestine is responsible for the shifting of the bacterial types, or is, at least in part, the result of it.

Besides the "obligate" inhabitants of the digestive tract, there are numerous transient organisms which are taken in with the different kinds of food, and while they are unable to multiply in the intestine or in the stomach, may pass through unkilled. Such organisms are, as a rule, comparatively few. It is a well-known fact, on the other hand, that many bacteria are destroyed in the digestive tract, especially in the stomach and the duodenum. B. putrificus Bienstock and B. oedematis maligni appear to be unable to develop in the intestine, and occur there in the form of spores only [1]).

Numerous investigations have been carried on to determine the influence of sterile food upon the number and kinds of microorganisms in the intestinal tract. Sucksdorff [2]) found a marked decrease in number during a period of three days. Brotzu [3]) obtained similar results with dogs. These findings are not in harmony with those of Stern [4]), Eberle [5]), Hammerl [6]), Ballner [7]) and Belonowsky [8]). Stern found no reduction in the number of intestinal bacteria of a person who received sterilized food for three days. After conducting a series of seven experiments on a child fed on sterilized cow's milk, Eberle arrived at the following conclusions: 1) The number of bacteria in feces is enormous, and is independent of bacteria that may be present in the food; 2) the number of cultivable bacteria is only 4.5—10.6% of the total, and 3) the estimations vary with the temperature at which the plates are kept, and with the medium (gelatin or agar).

Hammerl, experimenting on a person and a dog, observed no decrease in intestinal microorganisms after the use of sterile foods. He noticed, however, that there was a decrease or disappearance of common saprophytes (moulds, B. fluorescens, etc.) from the feces. Belonowsky employed mice in his investigations. Some of the mice were given sterilized corn, and others sterile corn and milk. The experiment lasted seven months, and at the time of its termination the same number of bacteria were found in the feces as at the beginning. Escherich had demonstrated in his early work that breast-fed infants wich receive practically sterile food eliminated enormous numbers of bacteria in the feces.

It appears as if comparatively little attention has been given to the study of the intestinal flora of the white rat. Jungano [9]) studied the influence of a meat diet, and found that the intestinal flora undergoes

1) Rettger, Journ. Biol. Chem. Vol. 4. 1908. p. 45—55.
2) Sucksdorff, cited by Stern.
3) Brotzu, cited by Belonowsky.
4) Stern, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 12. 1892. p. 88.
5) Eberle, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. 19. 1896. p. 2.
6) Hammerl, Zeitschr. f. Biol. Bd. 35. 1897. p. 355—376.
7) Ballner, Zeitschr. f. Biol. Bd. 45. 1904. p. 380—419.
8) Belonowsky, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. 44. p. 322—324.
9) Jungano, Compt. rend. d. séanc. et Mém. de la Soc. de Biol. T. 66. 1909. p. 112—114, 122—124.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:12 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

a very pronounced change when the rat is gradually put on this diet. B. coli is present, whereas on the ordinary diet this organism is absent from the feces. Furthermore, in the intestine of white rats which are kept on ordinary mixed food few aërobes are to be met with, according to Jungano, namely micrococci and a few bacillary forms. Of the anaërobes which be observed in normal feces B. bifidus and staphylococci were commonly present; also several "new" organisms which are described at some length, but which appear to be modified types of B. bifidus and B. acidophilus.

De Gasperi[1]) attempted to determine the predominating species of bacteria occurring in the feces of normal rats receiving a diet of mixed grain and bread, and also of rats which were kept on a diet of raw beef liver and hashed horse meat for two and a half months. He recognized 12 differents kinds of bacteria in the feces of the normal (grain- and bread-fed) animals, of which seven were strict anaërobes and five facultative. Bacillus bifidus, B. coli and a cocco-bacillus (praeacutus, Tissier) were the predominating organisms. There were also the Enterococcus of Thiercelin, Staphylococcus parvulus, B. acidophilus and the granular bacillus of Jungano; and still less numerous, the intestinal streptococcus, B. Welchii and Proteus vulgaris.

The rats did not tolerate the meat diet well, and frequent modifications were necessary. There was a marked change in the intestinal flora soon after the meat was given. B. bifidus was greatly reduced in number, while B. coli, intestinal streptococci, Proteus vulgaris and B. acidophilus became more numerous.

Experimental.

The investigation upon which this paper is based was carried on in connection with the elaborate nutrition experiments which are being conducted by Dr. T. B. Osborne and Prof. L. B. Mendel, under the auspices of the Carnegie Institution of Washington and of the Connecticut Agricultural Experiment Station (New Haven).

Very early in their feeding experiments with isolated food substances Osborne and Mendel were brought face to face with problems relating to the bacteria inhabiting the alimentary tract. There appeared the possibility that the food mixtures which they had been accustomed to feed to the experimental rats were not adapted in composition to the growth and development of certain types of intestinal bacteria. The usual ration consisted of a paste composed of dry purified protein, carbohydrate, inorganic salts and considerable fat; in short, a water-free medium which is unfavorable for the development of most types of bacteria. It was thought that such a food might introduce into the digestive tract of the animals, or favor by its peculiar composition, bacteria which under ordinary conditions of diet are foreign to the intestine, or are found there in insignificant numbers.

It was a common observation that rats which had been maintained for long periods of time on diets of isolated food-stuffs ate their own feces. The plan was instituted of feeding small quantities of the feces of rats living on ordinary mixed diet to animals which showed symptoms of nutritive decline. In several instances this appeared to be followed

1) De Gasperi, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. 57. p. 519—522.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:12 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

by a favorable response[1]). Subsequent attempts, however, have not been equally successful.

The appearance of symptoms of malnutrition apparently associated with alimentary disturbances caused some concern regarding the possibility of invasion of the digestive tube by undesirable bacteria, or of predominence of types having a harmful influence on the health of the animals. The coincidence of diarrheal conditions and failure of the rats to thrive on the experimental diets at certain seasons gave rise to the conjecture that such microorganisms may become extablishad, and interfere with adequate nutrition. Similar disturbances were not observed in rats which received the ordinary mixed diets.

The co-operation of the writers was sought, therefore, for the purpose of determining the normal bacterial flora of rats kept on different foods, and to ascertain the changes in the intestinal flora which are inaugurated by alterations in diet.

The bacteriological investigation extended over a period of almost ten months. The feces of 22 rats were examined; 17 of the rats received the experimental diets, and the remaining 5 the usual mixed food. With two or three exceptions, the special diets contained as the protein component one (rarely two) of the following pure proteins: edestin, gliadin, zein, casein and lactalbumin. The fat and most of the carbohydrate were supplied in the form of lard (or in one instance butter) and starch. As a rule, protein-free milk also constituted a portion of the diet. In three of the experiments milk powder was substituted for the protein-free milk (dry) and the pure protein[2]). The following is the composition of the foods containing pure protein,

Edestin, gliadin, zein, casein, or lactalbumin	18 %
Protein-free milk	28 %
Starch	29 %
Lard	25 %

Composition of food containing milk powder,

Milk powder	60 %
Starch	12 %
Lard	28 %

In one instance equal parts of casein and zein took the place of a single protein. Twice a small amount of agar (5 %) was added to the pure protein food. Zein was used but once as the only protein, and then it was accompanied by tryptophane (approximately 0.5 % of the food). Eight of the 17 experimental rats received edestin as the pure protein, two casein, two lactalbumin, and one gliadin.

The food was always kept in clean glass receptacles and protected from dirt as much as possible. Only small portions were given at a time, though the rats were permitted to eat all that they chose. The wire cages were kept scrupulously clean, and no dust or dirt was allowed to accumulate any where in the room in which the animals were kept.

The rats which were fed the ordinary mixed food were housed in a building apart from the others. Their diet consisted of dog-bread, sunflower seeds, carrots, meat and salt. The carrots and meat were given

1) Osborne, T. B. and Mendel, L. B., Feeding Experiments with Isolated Food-Substances. (Carnegie Instit. of Washington. Publication 156. Part II.)

2) For more detailed description of the different diets, and of the methods of feeding and caring for the rats, see Publications of the Carnegie Instit. of Washington. 156. Parts I and II. 1911.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:12 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

twice a week. The meat was boiled beef, and was given in small amount. The younger rats sometimes received milk.

The samples of feces to be tested were collected in small sterile glass cups, and whenever possible, directly from the rats. When it was necessary to collect them from the floor of the cage, precaution was taken to avoid contamination as much as possible. In order to obtain satisfactory emulsions the feces were shaken with definite amounts of sterile salt solution in an automatic shaker for at least thirty minutes. These suspensions or emulsions were used for the following purposes:

1) Pouring of plain agar plates, for the estimation of cultivable aërobes, and for identification purposes.

2) Inoculation of sugar media in fermentation tubes, for the detection of B. coli or coli-like organisms.

3) Inoculation of Veillon tubes, for the study of anaërobes.

4) Making of smears, for direct microscopic examination, after staining by the Gram method.

Plain agar was chosen for plating, in preference to litmus-lactose agar, since the former gave more uniform results than the other. For the isolation and study of anaërobes the Veillon[1]) tube was used, with slight modifications. The dimensions of the tube were the same as originally recommended; but we soon found the old procedure of removing colonies or portions thereof by passing a wire or drawn-out glass pipette through the upper layers of the agar very impractical and unsatisfactory. To obviate this difficulty, tubes were used which were open at both ends. In one of the ends a rubber stopper was inserted tightly. This modification enabled us to remove the deep colonies with ease and with little danger of contamination, by drawing the stopper out slowly, when by certain manipulation the agar came with it. The agar could also be pierced from the lower end, with the capillary tube, without much chance of contamination. Burri[2]) evidently had the same difficulty with the old Veillon tube, for he described an improved tube which was identical with the one which we improvised. The medium which was used in the Veillon tubes was the same as that employed by Veillon and Zuber, containing 1.5 % dextrose as the carbohydrate.

The periods during which the rats were under observation varied from only a few days to three months. The bacteriological examinations were usually made at intervals of less than a week; frequently two, and in some instances, three complete examinations a week were made. As a rule, the feces of experimental and of one of the stock room rats were studied side by side, so that the results might be strictly comparative. Little attention was given to the identification of organisms which were present in small numbers; hence, this paper deals particularly with those intestinal bacteria which, from the standpoint of numbers, appeared to be most important.

Results.

It was quite apparent from the beginning that the differences between the intestinal flora of the rats receiving the special diets and those which were kept on the ordinary mixed food were not as marked as might be expected. This may seem all the more surprising, since the various prepared diets were comparatively free from bacteria, as is seen in the following examples.

1) Veillon and Zuber, Arch. de méd. expérim. T. 10. 1898. p. 517—545.
2) Burri, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. 19. 1907.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:13 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Foods	Number of cultivable bacteria growing on ordinary agar plates
Milk food, as fed	56 000 per gram
Edestin, pure	87 000 „ „
Lard	Practically sterile
Corn starch	32 000 per gram
Milk powder	Practically sterile
Protein-free milk	„ „

Appreciable differences in the character of the intestinal bacteria were, however, always noticeable. The feces of the rats which were given the diets containing pure protein exhibited a more simplified flora than those receiving the usual mixed food. This transformation was brought about, as a rule, within a period of three or four days after the change from one diet to the other. Furthermore, the flora remained reasonably constant, depending apparently on the diet.

In certain respects the intestinal flora of the stock rats (receiving the usual mixed food) resembled that of man. In a direct microscopic examination of feces stained by the Gram method it would have been impossible to distinguish one from the other. There were present in large numbers organisms resembling Bacillus coli and B. aërogenes capsulatus of Welch; also long, slender, Gram-negative, rod-shaped bacilli resembling those which appear so abundant in the feces of man. In addition to these, intestinal streptococci and staphylococci were fairly numerous. The relative number of Gram-positive organisms constituted, with few exceptions, 35—50 % of the total.

In their cultural aspect, however, the feces of the stock rats bore little resemblace to those of healthy man. On ordinary agar plates comparatively few colonies of B. coli were obtained, though these were much more numerous than when the feces of the experimental rats were employed. Colonies of staphylococci and streptococci were comparatively rare; and Proteus vulgaris and yeasts were occasionally seen. The large majority of the colonies were small, appearing to the unaided eye like colonies of streptococci. On microscopic examination, however, they were found to differ from colonies of streptococci or any other organisms which occur, in appreciable numbers at least, in the feces of normal human adults.

These small colonies were of two distinct types which we designated "X" and "Y". The "X"-type bore the following description: It resembled a small mass or tuft of cotton, when seen through the microscope, and might easily be mistaken for small colonies of Bacillus oedematis maligni or B. anthracis symptomatici. It seldom attained a diameter of more than one millimeter. The "Y"-type differed from the preceding in that the colonies were, as a rule, smooth. The edge was usually regular, the slight irregularities which were occasionally observed being confined to but a small portion of the border. The colonies were round, oval or diamond shaped, and bore a striking resemblance to those of the pyogenic streptococcus. They were usually smaller than the "X"-type.

Both types of colonies were composed of large bacilli which were of practically the same microscopic appearance. The bacilli were decidedly Gram-positive, and took the ordinary aniline dyes readily. They occurred singly, in pairs, and in chains of varying lengths. Both were pleomorphic within wide limits. They were termed, for the sake of convenience, Bac. "X" and Bac. "Y", but are presumably members

Generated on 2019-09-15 15:13 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

of the acidophilus group of Moro, or the bulgaricus group of which B. bulgaricus, Type A, is such a well-known member.

In the Veillon tubes the "X"- and "Y"-types of colonies were easily distinguished from each other. They grew readily, and resembled the colonies which were obtained on aërobic agar plates. The "Y"-type at first caused more or less confusion, on account of its close resemblance to the colonies of B. bifidus in deep agar. The two could, however, be distinguished by certain minor differences, and by the fact that B. bifidus grew only at a considerable distance below the surface of the agar, while "Y" was found in all parts of the tube. "X" was also distributed throughout the medium. B. bifidus was frequently found to be present in the feces of the stock rats, but as a rule in small numbers. Colonies of B. coli (or of other gas-producing bacteria) were so few as to offer little or no difficulty.

Intestinal flora of rats receiving the special diets.

The most apparent difference between the flora of the stock rats and of those which were given the diets containing pure proteins, etc., was in the numbers of the different types of organisms that were present. Within three to four days after the diet was changed from the regular to the experimental the flora became greatly simplified, with a very few exceptions. This simplification could be observed most readily by the direct microscopic examination of Gram-stained slides prepared from the feces. In some instances the microscopic picture was apparently that of but one or two bacterial types, Bac. "X" or "Y" and B. bifidus. Bacillus bifidus was, as a rule, more abundant in the feces of the experimental rats than in the others. The number of Gram-positive organisms increased in numbers after the change from the ordinary to the special foods, and frequently constituted 90 – 100 % of the total number of bacteria on the slide.

Small cocci and coli-like rods usually became comparatively few. The same may be said of the type of long, slender, Gram-negative rods which under ordinary conditions were so common. In the Zein rat an organism was found to be present in large numbers which was only rarely observed in any of the others. This organism is apparently a member of the proteus group, closely resembling Proteus vulgaris. In the feces of this Zein rat there was, furthermore, a more mixed flora than in the other pure-protein rats. This exceptional finding may be due to the peculiar solubility properties of the Zein, and consequently a certain degree of indigestibility of this protein.

On the agar plates the "X"- and "Y"-types (acidophilus group) were frequently the only organisms observed. B. coli was, as a rule, present in the plates of lower dilutions only. In Veillon tubes Bac. "X", Bac. "Y" and Bac. bifidus were invariably the only organisms that were present, and in some of the edestin rats "X" appeared practically alone. In the sugar fermentation tests that were made with the different dilutions of the fecal suspensions little difference was noted in the amount of gas production, in so far as the different diets were concerned. There was typical colon bacillus fermentation in both dextrose and lactose media.

The diets containing pure protein had little, if any, influence on the number of cultivable bacteria in the feces. While the numbers varied widely at different times, the averages were practically the same. In

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:13 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

the microscopic preparations the organisms always appeared at least as numerous in the experimental as in the stock rats. However, there was usually little undigested or foreign insoluble matter to be found in the feces of the pure-protein rats, as compared with those of the rats given the regular diet daily and the amount of feces voided, by the former was decidedly less than that of the others.

The organism referred to as B. bifidus resembled in every particular B. bifidus of Tissier[1]), and at no time was there much doubt regarding its identity. However, the position which Bacillus "X" and Bacillus "Y" occupy was for some time a matter of great uncertainty. Both have many points in common; yet, they differ so decidedly in certain respects that they might be classed as distinct types or genera. Bac. "X" answers fully the description of Bacillus acidophilus of Moro. Its tolerance of at least 0.5 % acid, and its ability to grow in a medium containing this amount of free acid, strongly suggest a close relationship to the members of the acidophilus group. Its peculiar cultural characteristics, including acid production, its staining properties, morphology and extreme pleomorphism, as well as its relation to atmospheric oxygen, link it closely to the Moro bacillus. We shall, therefore, call it **Bacillus acidophilus.**

The other organism which appeared particularly prominent (Bac. "Y") in the feces of experimental rats may be regarded as occupying a midway position between the acidophilus bacillus of Moro and Bac. bifidus of Tissier. It is true that Bac. "Y" grows well under aerobic conditions, whereas B. bifidus fails to do so; but the difference is only a quantitative one, as B. bifidus does not require the complete exclusion of free oxygen in order to carry on development, and Bac. "Y" grows well under the conditions of reduced oxygen pressure which are so favorable for the bacillus of Tissier. Both organisms are pleomorphic, and in this respect resemble Bac. "X". In fact, all three may appear very much alike at certain stages. Bac. bifidus was the only organism, however, in which distinct branching was observed, but even in pure cultures of this bacillus only comparatively few of the rods possessed this property.

Bacillus "Y" resembles Tissier's Bacillus exilis[2]) in many ways. But according to Tissier's description of B. exilis it is smaller than Bac. "Y". Furthermore, B. exilis in not pleomorphic. There is a strong possibility that the two organisms are identical.

Bac. "Y" and Bac. bifidus are similar in many of their cultural properties. Both ferment dextrose, and, as a rule, lactose, with acid production. Their colonies in the Veillon tube are very much alike; also their growths in bouillon and on slant agar. They do not tolerate 0.5 % acid in the media, as the acidophilus bacillus of Moro and our strain ("X") do. Furthermore, both possess a comparatively low degree of viability in artificial culture media. The study of these organisms in their various relations is still in progress, and it is intended to publish more complete data in a subsequent paper.

There are wide variations among the members of both the acidophilus and the bifidus group, so that individuals of the same group often assume widely different characters. Noguchi[3]) even goes so far

1) Tissier, Thèse. Paris (Carre et Naud) 1900.
2) Idem.
3) Noguchi, Journ. Exp. Med. Vol. 12. 1910. p. 182—195.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:13 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

as to claim that Tissier's B. bifidus is an anaërobic phase of life of an aërobic organism resembling B. mesentericus fuscus, since he could induce sporulation and adaptation to aërobic conditions, and then return the organism to the anaërobic bifurcating phase. We have at no time observed such extreme variations in either B. bifidus, Bac. "X", or Bac. "Y". Although examinations were made frequently for the occurrence of spores, none could be demonstrated.

Since Bacillus coli was present in such small numbers in the feces of the rats which received the special diets of pure protein, etc., and because Bac. "X" and Bac. "Y" were so common, a few experiments were undertaken in order to determine whether the "X"- and "Y"-types exerted any inhibitory action on the colon bacillus when present in the same mixture. The usual fermentation tests were made in dextrose bouillon. The different inoculations of the fermentation tubes were made as nearly uniform as possible, one loopful of a salt suspension of twenty-four-hour slant agar cultures being used in every instance.

	Bac. "X"	Bac. "Y"	Bac. coli	"X" + coli	"Y" + coli
All inoculated at the same time	0 %	0 %	39 %	37.5 %	38.0 % gas
"X" and "Y" with a twenty four-hour start	0 „	0 „	35.0 „	6.5 „	6.0 „ „
"X" and "Y" with forty eight-hour start	0 „	0 „	26.5 „	0.0 „	9.0 „ „
"X" and "Y" with seventy two-hour start	0 „	0 „	29.0 „	9.0 „	1.0 „ „

These results strongly indicate that when "X" and "Y" are once established it is quite difficult for B. coli to gain much of a foothold. This idea is strongly supported by the results of two feeding experiments in which rats which were on diets containing pure protein (edestin) were supplied with vast numbers of B. coli in the drinking water. In one of these experiments B. coli was fed for almost four weeks without any perceptible increase in the numbers of **B. coli** in the feces. In the other there was a slight increase, but the rat had been on the special diet only a short time... Even in this instance the colon bacilli were very few.

In order to make comparative studies of intestinal flora it is quite important that the feeding of the animals receiving the ordinary normal diet be made as uniform as possible from day to day. During the present year we have frequently failed to find Bac. "X" or "Y" in the feces of stock-room rats the chief diet of which was bread and certain vegetables. Addition of milk or of certain grain fed to the bread caused a return of one or both of these organisms. The flora of albino rats can be made to vary in a marked degree by the feeding of different kinds of food.

That the intestinal flora of the stock rats and of those receiving the special diets containing pure protein or milk usually contained such large numbers of B. acidophilus ("X") and Bac. "Y", and in this particular bore considerable resemblance to each other, may be explained by the fact that the diets of the two sets of rats were not very different, insofar, at least, as the distribution of protein and starch were concerned. The simplification of the bacterial flora, with the great preponderance of the "X"- and "Y"-types, which occurred immediately after a change

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:13 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

from the ordinary to the pure food regimen, and their presence to the exclusion of practically all other types, at times, may have been due to the simplicity of the food itself, and its complete digestibility. The large percentage of pure carbohydrate (25—30 % starch) is of special significance here.

It is of particular interest to observe such a close resemblance between the intestinal flora of the white rats fed on the special diets and that of breast-fed infants. Sittler[1]) has shown, that the flora of bottle-fed children can be made to resemble that of nursing infants by the feeding of carbohydrate foods which on hydrolysis readily yield dextrose; as, for example, lactose. On the other hand, the feeding of carbohydrates which on hydrolysis yield levulose tend to bring about a change in the breast-fed infant to the mixed flora of children receiving cow's milk. Cane sugar, although it contains dextrose, is objectionable on account of the levulose group which it holds. According to Sittler's view the striking difference which is usually observed between the intestinal flora of bottle-fed and breast-fed children must be due largely to a difference in the digestibility of mother's milk and of cow's milk.

Summary.

Soon after the diet of the white rats was changed from the ordinary mixed food to the special diet containing starch, lard, protein-free milk and a pure protein a change became apparent in the character of the intestinal flora. The flora became more simplified, so that few types of bacteria were found to be present, either in examinations made directly of stained films, or by the standard methods of cultivation in agar. An increase in the number of Gram-positive organisms from 35—50 to 85—100 % was frequently observed. There were no appreciable differences in the results, in so for as the individual pure proteins were concerned, with the exception of those obtained in the feeding of Zein.

Although they were present in the feces of the stockroom rats in relatively large numbers, two organisms which are a part of, or are closely related to, the acidophilus group of bacteria, were frequently present to the exclusion of all other types, except Bacillus bifidus of Tissier and Bacillus coli. B. bifidus was much more abundant in the experimental rats than in those receiving the mixed food, while the number of Bac. coli in the former was greatly reduced.

No definite relationship could be established between the bodily conditions (growth, vigor, etc.) and the intestinal flora of the rats receiving the special diets.

1) Sittler, Centralbl. f. Bakt. Bd. 14. p. 14—30, 145—169.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:13 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Nachdruck verboten.

Kultivierungsversuche mit Plasmodium vivax nach der Methode von Bass[1]).

[Aus der Klinik für Kinderkrankheiten an der Universität Kasan (Direktor: Prof. Menschikoff).]

Von Dr. **P. I. Pitschugin.**

Seit der Entdeckung des Malariaparasiten durch Laveran versuchten einige Autoren, diesen Parasiten außerhalb des Organismus des Menschen zu erforschen. Laveran (1) gelang es im Jahre 1891, die Lebensfähigkeit des Malariaparasiten im hängenden Tropfen 10 Tage lang zu erhalten. Sacharow (2) hat folgende interessante Experimente angestellt: Er ließ einen Blutegel sich mit dem Blute eines Malarikers vollsaugen und bewahrte ihn 7 Tage lang im Eise auf; er beobachtete hierbei, daß die Parasiten die Fähigkeit, amöboide Bewegungen auszuführen, behalten haben. Um sich davon zu überzeugen, daß die im Blutegel enthaltenen Parasiten einen Menschen noch infizieren können, injizierte Sacharow sich selbst unter die Haut $^1/_4$ ccm von dem aus dem Blutegel ausgepreßten Blute, nachdem der Blutegel 4 Tage im Eise aufbewahrt worden war. Nach 12 Tagen stellte sich bei Sacharow ein Malariaanfall ein. Die Versuche von Corunado (3) und Kubassow (4), Kulturen vom Malariaparasiten zu erhalten, blieben erfolglos.

Im Jahre 1912 demonstrierten Bass und Johns [Olpp (7)] auf dem letzten internationalen Hygiene-Kongreß in Washington die 4. Generation einer Malariakultur, die sie bei ihren Arbeiten während der wissenschaftlichen Expedition in Ancona in der Nähe des Panamakanals gewonnen hatten.

Zur Gewinnung von Malariakulturen haben die Autoren besondere Methoden vorgeschlagen:

Bass (zit. nach Olpp) unterscheidet zwei Aussaatmethoden; bei der ersten kann man nur einen Stamm, bei der anderen eine beliebige Anzahl von Generationen gewinnen.

Die erste Methode besteht in folgendem: In einen sterilisierten Zylinder von 2,5 cm im Durchmesser gießt man 0,1 ccm einer 50-proz. Dextroselösung und fügt sofort 10 ccm Blut hinzu, welches der Vene eines Malarikers 1—2 Stunden nach einer kräftigen Mahlzeit entnommen war, und defibriniert vorsichtig das Blut mit einem Glasstäbchen. Bei der Entnahme von 20 ccm Blut nimmt man dementsprechend auch zweimal soviel Dextrose, d. h. 0,2 ccm. Beim Eingießen des Blutes in den Zylinder empfiehlt der Autor, denselben in schiefer Ebene zu halten, um einer Beimischung von Luft zum Blute vorzubeugen. Den Zylinder mit dem Blute bringt man dann in den auf 40—41° C eingestellten Brutschrank.

Verf. bemerkte, daß die Blutsäule im Zylinder mindestens 2,5—5,0 cm hoch sein muß, da die Parasiten, wenn die Blutsäule weniger als 12 mm hoch ist, noch vor der Schizogonie zugrunde gehen. Nachdem sich die roten Blutkörperchen niedergeschlagen haben, bildet sich im Zylinder eine 1,2—2,5 cm hohe Serumschicht. Die Parasiten leben in der oberen Schicht der ausgefallenen roten Blutkörperchen, und zwar in einer Schicht von mindestens 1—5 mm Dicke. Unter dieser Schicht gehen die Parasiten nach Bass in 2—20 Stunden zugrunde, wenn auch der Autor bisweilen halbreife Formen beobachtete.

Bass beobachtete, daß bei dieser Methode der Blutkonservierung die Parasiten der tropischen Malariaform sich regulär alle 30 Stunden teilen (das Temperaturoptimum für diesen Parasiten beträgt 41° C). Bei der Konservierung von Kulturen des Plasmodium vivax bei Zimmertemperatur beobachtete Bass in einem Falle Segmentation nach 4 Tagen.

Bei der zweiten Methode (zitiert nach Olpp) zentrifugiert man das der V. ulnaris entnommene und innerhalb kurzer Zeit defibrinierte Blut, damit sämtliche Leukocyten auf die Oberfläche kommen. Hierauf gießt man das Serum in Reagensgläschen von 12—13 mm im Durchmesser ab, in welche man zuvor 50-proz. Dextroselösung eingegossen hatte; hierbei ist es erforderlich, daß die Serumsäule mindestens 1,2—2,5 cm hoch ist. Dann nimmt man aus der Mitte 0,1—0,2 ccm der abzentrifugierten roten

1) Vortrag in der Gesellschaft der Aerzte an der Universität Kasan, nebst Demonstration von mikroskopischen Präparaten, gehalten am 2. Mai 1913.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:13 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Blutkörperchen, welche die Malariaparasiten enthalten, und verpflanzt sie auf den Boden eines Reagensgläschens.

Sowohl bei der ersten als auch bei der zweiten Methode müssen folgende wichtige Bedingungen erfüllten werden: Erstens muß man die Pipette, mit der man die Blutproben entnimmt, nachdem man sie durch die Flamme eines Gasbrenners gezogen hat, gut abkühlen lassen, da eine Temperatur von 45—50° C die Parasiten tötet; zweitens müssen die Reagensgläschen mit der Malariaparasitenkultur vertikal stehen, weil die Parasiten bei schiefer Stellung der Reagensgläschen nach unten sinken und rasch zugrunde gehen.

Bei seinen Experimenten verwendete Bass (6) für Malariaparasitenaussaaten nicht nur menschliches Serum, sondern auch die Lockesche Lösung (ohne $CaCl_2$) und aszitische Flüssigkeit.

Bass (6 u. 10) sagt, daß die Parasiten nur in den roten Blutkörperchen wachsen und zerfallen, sobald sie aus den letzteren heraustreten und nach außen (in das Nährmedium) gelangen. In den Kulturen wurde nur geschlechtslose Vermehrung beobachtet, wobei sich der Entwickelungszyklus des Plasmodium praecox und des Plasmodium vivax in vitro vom Entwickelungszyklus im Blute des Menschen nicht unterschied. Bass behauptet, daß man Schizonten durch Ueberimpfungen bis ins Unendliche züchten könne. Bass und Johns sagen, daß es ihnen gelungen sei, nicht nur die Lebensfähigkeit zu erhalten, sondern drei Formen des Malariaparasiten, nämlich Plasmodium vivax, Plasmodium malariae und Plasmodium immaculatum (praecox) zu kultivieren. Sie haben Kulturen in 29 Fällen von Malaria tropica, in 6 Fällen von Malaria tertiana und in 1 Falle von Malaria quartana erhalten.

Es muß hinzugefügt werden, daß nach den Beobachtungen von Bass [Ziemann (11)] in den Kulturen sich am besten das Plasmodium praecox entwickelt, während Plasmodium vivax weniger gut sich entwickelt. Bass erklärt, daß seine Experimente seit dem Augenblick erfolgreich seien, wo er zu dem zu untersuchenden Blute im Reagensgläschen 50-proz. Dextroselösungen hinzuzufügen begonnen hatte. Statt der Dextroselösung kann man Maltoselösung anwenden; mit den übrigen Zuckerarten, wie Saccharose, Laktose, Galaktose, Dextrin und Mannit, gelangen die Kultivierungsversuche mit den Malariaparasiten nicht.

Leider sind weder in der Arbeit von Olpp, noch in den Referaten der Arbeiten von Bass und Johns Details über die Struktur der Malariaparasiten bei deren Wachstum in den Reagensgläschen angegeben. Diese Lücke wird durch die Untersuchungen ausgefüllt, die Ziemann mit den Blutausstrichpräparaten, die ihm Bass geschickt hatte, ausgeführt hat. Zur Anfertigung von Ausstrichpräparaten nahm Bass Blut aus den Kulturen nach $5^1/_2$, 15, $21^1/_2$, 30, 40, 44, 48 und 68 Stunden des Wachstums des Parasiten der tropischen Malariaform.

Die Schlüsse, zu denen Ziemann auf Grund des Studiums dieser Präparate gelangt ist, sind folgende: 1) Die geschlechtslose Entwickelung der Parasiten in vitro entspricht ganz jener Entwickelung, die im peripherischen Blute vom Menschen beobachtet wird, wobei die Entwickelung des Parasiten der tropischen Malaria in 48 Stunden vor sich geht und die Parasiten dieselben charakteristischen morphologischen Merkmale zeigen wie auch im peripherischen Blute (Schluß 9). Nach 30-, 44-, 46-stündigem Wachstum des Parasiten werden neben den gewöhnlichen Formen des sich teilenden Parasiten oder den vollkommen reifen Formen auch halbreife Formen von runder Kontur teils mit sehr schwach gefärbtem Protoplasma und staubförmig verstreutem Chromatin, teils mit etwas intensiver blau gefärbtem Protoplasma und staubförmigem oder mehr grobkörnigem Chromatin beobachtet. Ob nun erstens diese Parasitenform als Gameten oder als absterbende zu betrachten sind, und 2) ob diese Parasiten bei primärer Erkrankung oder bei Rezidiven erhalten worden sind, kann Ziemann nicht sagen. 3) Konjugationen von jungen Parasiten, welche Mannaberg und Craig gesehen haben wollen, hat Ziemann nicht gesehen. 4) Die Bildung von Halbmonden hat Ziemann selbst in einer 68-stündigen Kultur nicht konstatieren können. 5) In einer 48-stündigen Kultur konnte Ziemann eine große Anzahl von Parasiten sehen, die sich bereits im Teilungsstadium befanden. 6) Junge Merozoiten, die den sich teilenden Körper des Parasiten verlassen haben, bleiben nur kurze Zeit frei im Plasma und überfallen bald die roten Blutkörperchen. 7) Wanderung des Parasiten aus dem einen roten Blutkörperchen in das andere, welcher Erscheinung Rowley-Lawson große Bedeutung beimessen, konnte Ziemann nicht wahrnehmen. 8) Geringe Anzahl oder vollständiges Fehlen von Leukocyten in der Kultur behindert die Entwickelung des Parasiten nicht. Der größere Teil des Parasiten sei in der 68-stündigen Kultur degeneriert.

Es wurden dann Versuche gemacht, in der Kultur einen sexuellen Entwickelungszyklus des Malariaparasiten in der Form zu erhalten, in der er im Körper der Anopheles vor sich geht. So hat N. M. Schukow (8) beim Studium der Malaria am Gestade des Kaukasus am Schwarzen Meere unter Benutzung der Bassschen Methode

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:13 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

in dieser Richtung Experimente angestellt, von denen die ersten jedoch mißglückten. Er modifizierte dann einigermaßen die Basssche Technik. Die Modifikation bestand in folgendem: 10 ccm Blut, welches der V. ulnaris eines mit tropischer Malaria behafteten Patienten unter den üblichen Vorsichtsmaßregeln entnommen worden war, wurden sofort in 4 sterilisierte Reagensgläschen gebracht, von denen jedes 0,5 ccm einer 10-proz. Lösung von Natrium citricum enthielt. Das Blut wurde mit dieser Flüssigkeit rasch vermischt, um einer Gerinnung vorzubeugen, worauf die Mischung $^1/_2$ Stunde lang inaktiviert wurde. 2 Reagensgläschen bei 41° und 2 bei 44° C. Nach der Inaktivierung brachte N. M. Schukow sämtliche Reagensgläschen in den Brutschrank bei einer Temperatur von 25—26° C, von der theoretischen Erwägung ausgehend, daß für die im Körper der Anopheles vor sich gehende Sporogonie jene Temperatur erforderlich ist. Den Reagensgläschen entnahm Verf. Blut in verschiedenen Zeitabständen, beginnend 2 Stunden nach der Aussaat, strich es aus, fixierte es in der üblichen Weise und färbte nach Giemsa. Die Resultate dieses Experiments sind folgende: In den ersten zwei Reagensgläschen, welche bei 41° C inaktiviert wurden, konstatierte Verf. das erste Stadium des Geschlechtszyklus der Entwickelung des Parasiten, mit Copula und birnförmigen Ookineten mit diffuserem Pigment an dem einen Ende beginnend und mit reiferen Ookineten mit zentraler Lagerung des Kernes und mit Pigment, welches an dem einen Ende der Ookineten zusammengehäuft war, schließend. Am dritten Tage begannen die Parasiten zugrunde zu gehen; in zwei anderen Reagensgläschen, welche bei 44° C inaktiviert wurden, sind die Parasiten zugrunde gegangen.

Das zweite Experiment, welches N. M. Schukow am Malariaparasiten angestellt hatte, gelang in vollem Maße. Er befolgte hier dieselbe Technik wie im vorigen Falle, nur setzte er jedem Reagensgläschen behufs Steigerung der Lebensfähigkeit des Parasiten und der roten Blutkörperchen je 1,5—2,0 ccm Lockescher Flüssigkeit auf je 4 bis 5 ccm Blut hinzu. In diesem Experiment konstatierte N. M. Schukow nicht nur Befruchtung, sondern auch weitere Segmentation der befruchteten Formen, wobei er zu Beginn des 6. Tages große Quantitäten vom Sporozoiten verschiedenster Form, von noch nicht ganz geteilten bis zu vollkommen reifen und freien, nachweisen konnte. Verf. fügt hinzu, daß die Segmentation hier nach einem anderen Plane vor sich geht, und zwar aus dem Grunde, weil es hier keine Gewebe gibt, welche die Entwickelung der Parasiten hätten behindern können, so daß diese bis zum Reifungsakt kommen können.

A. G. Gurko und J. E. Hamburger (9) experimentierten mit dem Blute, welches sie der V. mediana eines 8-jährigen, mit tropischer Malariaform behafteten Knaben entnommen hatten (im Blute wurden bei mehrmaliger Untersuchung ringförmige Formen der tropischen Malaria und Halbmonde nachgewiesen). Das Reagensgläschen mit dem ausgesäten Blut ließen die Autoren im Brutschrank 3 Tage lang bei einer Temperatur von 39° C stehen. Nach 15 Stunden machten sie die erste Aussaat nach der oben beschriebenen zweiten Methode. In den Blutausstrichpräparaten der ersten Aussaat (erstes Reagensgläschen) fanden die Autoren nach 15 Stunden Ringe, zahlreiche Halbmonde und in Teilung begriffene Schizonten. Nach 40 Stunden fanden sie in den Ausstrichpräparaten aus dem Blute, welches demselben Reagensgläschen entnommen war, Ringe, Schizonten und Gameten, während nach 64 Stunden in den Ausstrichpräparaten schöne Teilungsfiguren der Schizonten überwogen. Bei der 24 Stunden später vorgenommenen Aussaat, d. h. der zweiten Generation, fanden die Autoren in den Ausstrichpräparaten außerordentlich zahlreiche Merozoiten, 24 Stunden später fanden sie bei der Untersuchung der Ausstrichpräparate der zweiten Aussaat, d. h. der dritten Generation, außerordentlich kleine Merozoiten und Gameten, während die vierte Generation zugrunde gegangen war. Die Autoren haben noch weitere 2 Experimente angestellt, die aber beide mißlangen.

Aus diesen Experimenten geht hervor, daß A. G. Gurko und J. E. Hamburger in den Kulturen Schizogonie des Plasmodium praecox, d. h. diejenige Vermehrungsart des Parasiten beobachtet haben, die im Knochenmark und in den Kapillaren des Zentralnervensystems, aber nicht im peripherischen Blute beobachtet wird.

Wenn wir die von den Autoren, welche sich mit der Kultivierung der Malariaparasiten befaßt hatten, erhobenen Befunde einer summarischen Betrachtung unterziehen, so ergibt sich folgendes: 1) Mittels der Bassschen Methode gelingt es am besten, die Parasiten der tropischen Malariaform zu kultivieren. 2) Bass und Johns, A. G. Gurko und J. E. Hamburger haben in den Kulturen nur den Zyklus der geschlechtslosen Vermehrung der Parasiten beobachtet, wobei die erstgenannten beiden Autoren die größte Anzahl von in Teilung begriffenen

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:13 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Parasiten der tropischen Malaria nach 48 Stunden, die beiden letztgenannten nach 64 Stunden beobachteten. 3) In den Kulturen wurde innerhalb 6 Tagen auch der Zyklus der sexuellen Entwickelung des Parasiten der 4-tägigen Malariaform beobachtet (N. M. Schukow).

Sämtliche oben erwähnten Autoren, Bass und Johns ausgenommen, haben somit Experimente hauptsächlich mit Kultivierung von Parasiten der tropischen Malariaform ausgeführt. Was die Kultivierung von Parasiten der Malaria tertiana betrifft, so hat einschlägige Experimente, so weit wir aus der Literatur wissen, außer Bass und Johns noch niemand vorgenommen. Infolgedessen haben wir auf Anregung des hochverehrten Herrn Prof. W. K. Menschikow einige Experimente mit der Kultivierung der Parasiten der Malaria tertiana nach der Methode von Bass angestellt und zu diesem Zwecke die Kranken unserer Kinderklinik verwertet.

1) Das Blut, welches wir bei der Ausführung des ersten Experimentes verwerteten, stammte von dem 11-jährigen Knaben K., der lange an Malaria litt, den genauen Zeitpunkt jedoch nicht angeben konnte. Die Frau, welche den Knaben in die Klinik brachte, konnte gleichfalls keine genaueren Angaben machen; die Eltern des Kindes waren nämlich tot. Bei der allgemeinen Besichtigung des Knaben fielen schlechter Ernährungszustand und Blässe der Hautdecken sowie der sichtbaren Schleimhäute auf. Die Untersuchung des Blutes ergab: Rote Blutkörperchen 3 686 000, weiße Blutkörperchen 7700, Hämoglobin (nach Tallquist) 55 Proz. Die Malariaanfälle wiederholten sich bei dem Knaben täglich. Die Milz konnte 10 cm unterhalb des Rippenbogens palpiert werden, ihre Konsistenz war derb. Bei der Untersuchung der Ausstrichpräparate vom Blute, welches diesem kranken Kinde entnommen war, ergab sich das Vorhandensein von Plasmodium vivax in verschiedenen Entwickelungsstadien. 2 Stunden nach einem opulenten Frühstück (am 2. Tage seines Aufenthaltes in der Klinik), auf der Höhe des Anfalls wurden bei dem Knaben der V. ulnaris 10 ccm Blut entnommen, welches in einen entsprechend großen, sterilisierten Zylinder gegossen wurde, der 0,1 ccm einer 50-proz. Lösung von chemisch reiner Dextrose enthielt. Nach der Defibrinierung des Blutes mittels eines Glasstäbchens wurden aus dem Zylinder mittels sterilisierter Pipette 3 ccm Blut genommen und in ein Reagensgläschen von ungefähr demselben Diameter, wie er von Bass angegeben ist, gegossen. Der Zylinder mit dem Malariablut wurde dann in den Brutschrank bei einer Temperatur von 40° C gebracht, während das Blut im Reagensgläschen einer kurzen Zentrifugierung unterzogen und dann gleichfalls in den Brutschrank bei der oben angegebenen Temperatur gebracht wurde. Nach der Defibrinierung des Blutes im Zylinder wurden mittels sterilisierter Pipette einige Tropfen Blut genommen und von diesen einige Ausstrichpräparate angefertigt, die dann mit Methylalkohol fixiert und nach der Methode des verstorbenen Prof. P. D. Argutinski mit einer Mischung von Methylenblau und Eosin gefärbt wurden.

In Anbetracht des Umstandes, daß die Färbung der Malariaparasiten nach der Methode von Argutinski vielen unbekannt ist, obgleich sie außerordentlich handlich und einfach ist, halten wir es für angebracht, dieselbe mit kurzen Worten zu beschreiben: Man bereitet die erforderliche Menge einer 1-proz. wässerigen Lösung von Methylenblau (Methylenblau medicinale Höchst a. M.), und nach Zusatz von 5-proz. wässeriger Sodalösung in einer Quantität von 6 ccm auf je 100 ccm der Methylenblau-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:13 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

lösung läßt man dieselbe bei zerstreutem Licht und bei Zimmertemperatur stehen. Es muß darauf hingewiesen werden, daß man das Methylenblau in heißem, destilliertem Wasser löst, um der Entwickelung von Schimmel in der Lösung vorzubeugen. Zu der erkalteten Methylenblaulösung gießt man die gleichfalls erkaltete 5-proz. Sodalösung in der oben angegebenen Proportion hinzu. Nach 4—5 Tagen kann man die Methylenblaulösung schon verwerten; ihre Brauchbarkeit bleibt viele Monate lang erhalten. Hierauf bereitet man eine 1-proz. wässerige Eosinlösung (B. A. extra). Auch das Eosin muß man, um einer Verschimmelung vorzubeugen, in heißem, destilliertem Wasser lösen. Die Färbung der Blutausstrichpräparate wird mittels einer Mischung von schwachen Lösungen dieser Farbstoffe bewerkstelligt. Schwache Lösungen dieser Farbstoffe werden folgendermaßen hergestellt: Man nimmt 1 Teil der angegebenen 1-proz. Methylenblaulösung und verdünnt sie mit 9 Teilen destillierten Wassers; die erhaltene Lösung entspricht einer $^1/_{10}$-proz. wässerigen Methylenblaulösung. Ferner nimmt man wieder 1 Teil einer 1-proz. wässerigen Eosinlösung und 99 Teile destillierten Wassers. Die erhaltene Lösung entspricht einer $^1/_{100}$-proz. Eosinlösung. Zur Färbung nimmt man 1 Teil der $^1/_{10}$-proz. Methylenblaulösung und vermischt mit 5 Teilen der $^1/_{100}$-proz. Eosinlösung. Die Mischung wird unter die Blutausstrichpräparate gegossen. Die Färbung dauert $^1/_2$—1 Stunde. Hierauf wird das Präparat mit Wasser abgespült und getrocknet.

In den Blutausstrichpräparaten, die unmittelbar nach der Defibrinierung im Zylinder angefertigt worden waren, wurde Plasmodium vivax in verschiedenen Entwickelungsstadien konstatiert in Form zahlreicher Ringe und vieler junger, bisweilen amöboider Parasitenformen. Häufig sah man halberwachsene Merozoiten, sowie ab und zu Schizonten. Die roten Blutkörperchen, die mit halberwachsenen Merozoiten, größeren Ringen und Schizonten infiziert waren, waren fast sämtlich gesprenkelt.

Ferner möchten wir die Präparate beschreiben, welche aus dem Blute gefertigt sind, das im Zylinder aufbewahrt wird und sich im Brutschrank bei einer Temperatur von 40° C befindet; die Ausstrichpräparate wurden in verschiedenen Zeitabständen angefertigt.

In den Blutausstrichpräparaten, die nach 7-stündigem Verweilen im Zylinder angefertigt worden waren, fand man zahlreiche Parasiten verschiedenen Alters, von den jüngsten Formen bis zu den erwachsenen, die sich bereits teilten; fast sämtliche roten Blutkörperchen, in denen sich halberwachsene und erwachsene Parasiten befanden, waren deutlich gesprenkelt.

24 Stunden später fand man in den Blutausstrichpräparaten ausschließlich Merozoiten mit einem, selten mit zwei Kernkörperchen, wobei einige rote Blutkörperchen gesprenkelt waren. Man sah sowohl freiliegende Merozoiten, als auch solche, die sich auf den roten Blutkörperchen soeben festgesetzt hatten. Außerdem sah man in großer Anzahl zugrunde gehende Parasiten, deren Körper rosafarben, deren Kern aber rötlich oder dunkelrot gefärbt war; es kamen auch Parasiten vor, deren Körperperipherie sich rosa färbte, während der zentrale Teil des Protoplasmas um die Kerne herum himmelblau, der Kern aber rötlich gefärbt war.

Nach 34 Stunden fand man in den Ausstrichpräparaten in ziemlich großer Quantität Parasiten in verschiedenen Entwickelungsstadien mit Merozoiten (bisweilen saßen dieselben zu je 3 Stück in einem roten Blutkörperchen) von kleineren oder größeren Ringen bis zu vollkommen

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:13 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

erwachsenen und in Teilung begriffenen Formen; bei den erwachsenen und sich teilenden Parasiten beobachtet man im Protoplasma eine geringe Quantität feinkörnigen, dunkelbraunen Pigmentes. Fast sämtliche roten Blutkörperchen waren feinkörnig gesprenkelt. Außerdem kommen zugrunde gehende Parasiten vor, deren Körper blaßrosa, deren Kern rötlich gefärbt ist. In einigen Parasiten sieht man Körnchen und Schöllchen gelb-zimtbraunen Pigmentes.

Nach 46 Stunden sah man in den Blutausstrichpräparaten Merozoiten und in ziemlich großer Quantität zugrunde gehende Parasiten, bei denen die verschieden großen Kerne sich dunkelrosa färbten, während der Körper der Parasiten und die roten Blutkörperchen Rosafärbung annahmen, auf deren Hintergrund bisweilen ziemlich große Körner gelbbraunen Pigments scharf hervortreten.

Nach 56 Stunden konnten wir in den Blutausstrichpräparaten nur noch zugrunde gehende Parasiten mit dunkelrosa gefärbtem Kern sehen. Der Körper der Parasiten war schwach rosa gefärbt. Die Mehrzahl der Parasiten enthielt eine geringe Quantität fein- oder grobkörnigen Pigments von gelblich-zimtbrauner Farbe.

Ferner untersuchten wir unter dem Mikroskop Ausstrichpräparate vom Blute, welches dem Reagensgläschen entnommen war, in das, wie oben erwähnt, die erste Aussaat gemacht worden war. Bei der Untersuchung der Ausstrichpräparate, die 24 Stunden nach der Aussaat mit den auf den Boden des Reagensgläschens niedergefallenen roten Blutkörperchen gemacht worden war, sah man dieselben Parasitenformen, wie im vorhergehenden Falle, d. h., wir konstatierten lediglich junge Merozoiten, die ab und zu zwischen den roten Blutkörperchen frei lagen. Einige der infizierten roten Blutkörperchen waren gesprenkelt. Wir nahmen 0,1 ccm roter Blutkörperchen aus dem ersten Reagensgläschen, saugten in dieselbe Pipette 0,5 ccm frischer, roter Blutkörperchen von einem Diener, der niemals malariakrank war, hinein und verpflanzten diese Mischung von roten Blutkörperchen auf den Boden eines Reagensgläschens, in welches zuvor Blutserum gegossen worden war, welches durch Zentrifugierung des Blutes desselben Dieners gewonnen und mit 0,1 ccm einer 50-proz. Dextroselösung vermengt war. Dieselbe Aussaat wurde in ein anderes Reagensgläschen gemacht, in dem sich eine Mischung von inaktivierter ascitischer Flüssigkeit mit 50-proz. Dextroselösung befand. Auf diese Weise machten wir die erste Aussaat der Parasiten.

Nach 24-stündigem Wachstum der Parasiten im ersten und zweiten Reagensgläschen (48 Stunden nach der Blutentnahme) fanden sich in den Ausstrichpräparaten vom Blute, welches vom Boden der Reagensgläschen genommen war, zahlreiche, zugrunde gegangene und zugrunde gehende Parasiten. Der Körper der letzteren war schwach rosa gefärbt, wobei im Körper zahlreicher Parasiten, gelb-zimtbraune Pigmentkörnchen und -schöllchen sich befanden. Die kleinen Kerne waren rosa oder kirschrot gefärbt, in geringer Anzahl waren halberwachsene und erwachsene Merozoiten und größere Ringe (selten) mit einer geringen Menge feinkörnigen Pigments zu sehen; sowohl die Kerne als auch das Protoplasma dieser Parasiten waren gut gefärbt. Es muß darauf hingewiesen werden, daß die Parasiten in der zu untersuchenden Kultur im Vergleich zu den Parasiten des zu derselben Stunde von demselben Patienten entnommenen peripherischen Blutes kompakter erscheinen.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:13 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Nach 20-stündigem Wachstum der Parasiten in denselben 2 Reagensgläschen (68 Stunden nach der Blutentnahme) sah man relativ häufig zugrunde gegangene und zugrunde gehende Parasiten; die Körper der letzteren waren rosa, die Kerne rosarot oder kirschrot gefärbt. Die Pigmentkörnchen, welche in den Parasiten enthalten waren, zeigten gelbbraune Färbung. Ab und zu sah man Schizonten, deren Protoplasma sehr schön himmelblau gefärbt war und eine große Menge von feinkörnigem, gelbbraunem Pigment enthielt. Die Kerne der Parasiten waren rötlich oder kirschrot gefärbt. Die roten Blutkörperchen, welche Schizonten enthielten, waren gesprenkelt. Um diese Zeit (68 Stunden nach der Blutentnahme) machten wir eine zweite Aussaat: 0,1 ccm Blut, welches vom Boden des einen der beiden Reagensgläschen genommen war, wurde mit 0,5 ccm frischer, roter Blutkörperchen vermengt, die von einem anderen Diener, einem gesunden, niemals malariakrank gewesenen Menschen, gewonnen wurden. Diese Mischung von roten Blutkörperchen wurde auf den Boden des Reagensgläschens verpflanzt, in welches zuvor ascitische Flüssigkeit mit 0,1 ccm einer 50-proz. Dextroselösung hineingegossen worden war. Die gleiche Aussaat machten wir auch aus dem zweiten Reagensgläschen.

10 Stunden nach der zweiten Aussaat (78 Stunden nach der Blutentnahme) wurden vom Boden des Reagensgläschens Blutproben entnommen und Ausstrichpräparate angefertigt. Bei der mikroskopischen Untersuchung der Ausstrichpräparate sah man ab und zu sich teilende Parasitenformen; neben diesen Formen waren hier und da zugrunde gehende Parasiten zu sehen.

Nach 17 Stunden sah man in den Ausstrichpräparaten vom Blute, welches aus demselben Reagensgläschen entnommen war (95 Stunden nach der Blutentnahme), hier und da junge Merozoiten, die sich in den roten Blutkörperchen befanden; ab und zu waren zugrunde gehende Parasiten zu sehen.

24, bzw. 48 Stunden nach der zweiten Aussaat sah man in den Blutausstrichpräparaten hier und da junge Parasitenformen sowie zugrunde gegangene und zugrunde gehende Parasiten. Schizonten und in Teilung begriffene Formen konnten wir in den Präparaten nicht nachweisen.

48 Stunden nach der zweiten Aussaat wurde eine dritte Aussaat angelegt. Bei der mikroskopischen Untersuchung der Ausstrichpräparate, die nach 1 – 2 Tagen aus dem Blute der dritten Aussaat gefertigt waren, gelang es nicht, einen Entwickelungszyklus der Parasiten wahrzunehmen, und nur hier und da waren zugrunde gehende Parasiten zu sehen.

Wir haben noch 2mal demselben Patienten je 10 ccm Blut entnommen, um Untersuchungen und Aussaaten nach demselben Plane vorzunehmen. Die Resultate dieser beiden Experimente sind im allgemeinen dieselben wie im ersten Experiment; infolgedessen nehmen wir davon Abstand, Details der Blutuntersuchung auf Malariaparasiten, die bei Kultivierung derselben in Reagensgläschen gewonnen waren, vorzubringen.

Die Resultate der Experimente mit Kultivierung des Plasmodium vivax haben gezeigt, daß der Zyklus der asexuellen Vermehrung des Malariaparasiten sowohl in Kulturen als auch im peripherischen Blute fast parallel vor sich geht. Man kann dies leicht verfolgen, wenn man gleichzeitig Ausstrichpräparate vom Blut aus der Kultur und von demjenigen des Patienten nach Fixierung und entsprechender Färbung unter

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:13 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

dem Mikroskop untersucht. Ferner haben diese 3 Experimente gezeigt, daß es beim ersten Entwickelungszyklus des Plasmodium vivax in den Kulturen gelingt, in den Blutausstrichpräparaten eine große Anzahl von lebenden Parasiten zu beobachten, neben welchen mehrere zugrunde gegangene oder zugrunde gehende Parasiten angetroffen werden.

Nebenbei möchten wir bemerken, daß wir als zugrunde gegangene Parasiten diejenigen betrachten, die im roten Blutkörperchen als rosa gefärbte Gebilde erscheinen, die gelbbraunes Pigment, aber keine Kerne enthalten. Als zugrunde gehende Parasiten betrachten wir diejenigen, deren Körper sich rosa, deren Kerne sich aber rötlich oder kirschrot färben.

Bei der ersten Aussaat, folglich in der zweiten Generation des Parasiten, läßt die Anzahl der lebenden Individuen zwischen denselben bedeutend nach. Augenscheinlich können bei künstlichen Wachstumsbedingungen nur die widerstandsfähigeren Formen des Plasmodium vivax leben, die auch den vollständigen Zyklus der asexuellen Vermehrung durchgemacht haben. Neben den Parasiten, welche sich mit einer Mischung von Methylenblau und Eosin gut färben, sah man hier in großer Quantität zugrunde gegangene und zugrunde gehende Parasiten.

In der dritten Generation des Plasmodium vivax gelang es uns in den oben erwähnten Experimenten nicht, in den Blutausstrichpräparaten den Entwickelungszyklus dieses Parasiten nachzuweisen; wir konnten aber hier und da vorkommende junge Parasitenformen wahrnehmen, die in den roten Blutkörperchen lagen.

2) Patientin O. E., 8 Jahre alt, ziemlich blaß. Leidet seit 3 Wochen an Malariaanfällen, die einen Tag um den anderen stattfinden. Die Milz ist 5 cm unterhalb des Rippenbogens palpabel. Auch früher hatte das Kind an Malaria gelitten. Bei der Untersuchung der Blutausstrichpräparate wurde Plasmodium vivax festgestellt. Unter Einhaltung aller Bedingungen, von denen oben die Rede war, wurden der V. ulnaris 10 ccm Blut entnommen und in einen Zylinder gegossen, der 0,1 ccm einer 50-proz. Dextroselösung enthielt. Im weiteren Verlaufe wurde das Experiment in derselben Richtung geführt wie die vorangehenden 3 Experimente. Die Resultate stimmten im großen und ganzen mit denjenigen der vorangehenden Experimente überein, d. h. es gelang uns nur, einen vollständigen Entwickelungszyklus des Plasmodium vivax in 2 Generationen wahrzunehmen.

3) W. A., 9 Jahre alt, seit $1^1/_2$ Monaten einen Tag um den anderen Malariaanfälle. Pat. ist gut gebaut, ziemlich blaß. Die Milz ist 6 cm unterhalb des Rippenbogens palpabel. Die Blutuntersuchung ergab 3644000 rote Blutkörperchen, 7000 weiße Blutkörperchen, 65 Proz. Hämoglobin. Bei der Untersuchung der Ausstrichpräparate fand man Plasmodium vivax in großer Anzahl. Diesem Pat. wurde zu verschiedener Zeit mittels Spritze 3mal aus der V. ulnaris Blut entnommen. Die Experimente mit der Kultivierung der Parasiten (Plasmodium vivax) wurden nach denselben Methoden geführt wie bei den vorangehenden Experimenten. Hinzugefügt muß werden, daß in 2 Experimenten die Reagensgläschen während der Apyrexie beim Pat. auf 37° C gehalten wurden; stieg die Temperatur beim Pat., so brachten wir die Reagensgläschen in einen Brutschrank mit einer Temperatur von 40° C. Nebenbei möchten wir bemerken, daß wir irgendeinen Unterschied im Wachstum der Parasiten in den Kulturen, die sich im Brutschrank stets bei

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:13 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

einer Temperatur von 40° C befanden, und in den Kulturen, die bald bei 37°, bald bei 40° C sich befanden, nicht bemerkt haben.

In dem einen dieser Experimente ergaben sich etwas andere Resultate, und auf diese möchten wir etwas ausführlicher eingehen. Bei der Untersuchung der Ausstrichpräparate vom Blute, welches aus den Kulturen 6, bzw. 24 Stunden nach der Aussaat gewonnen war, bemerkten wir im Protoplasma vieler gut gefärbter Parasiten außer Körnchen und Schöllchen dunkelbraunen Pigments noch dunkelbraunes und sogar schwarzes Pigment, während in den Parasiten des peripherischen Blutes dieses letztere Pigment nicht nachgewiesen werden konnte. In demselben Experiment gelang es uns nicht nur, den vollständigen Zyklus der asexuellen Vermehrung des Plasmodium vivax in 2 Generationen zu verfolgen, sondern auch Merozoiten und Schizonten der dritten Generation (5 Tage nach der Aussaat) zu sehen; Teilung des Parasiten in der dritten Generation konnten wir nicht sehen. Es muß jedoch darauf hingewiesen werden, daß die Anzahl der Parasiten in den Ausstrichpräparaten nicht groß, dagegen die Anzahl der zugrunde gehenden und zugrunde gegangenen merklich größer war. Bei täglicher Untersuchung der Kulturen des Plasmodium vivax innerhalb 17 Tagen, vom Tage der Blutentnahme beim Pat. (die Kulturen wurden alle 2 bis 3 Tage aufs neue ausgesät) gerechnet, gelang es uns immer, ab und zu zugrunde gehende Parasiten zu beobachten, deren Körper bisweilen gelbzimtbraune Pigmentkörnchen enthielt, und rosarot oder kirschrot gefärbt war. Am 14. Untersuchungstage fanden wir in einem Präparate 2 Parasiten in Form von bläulich gefärbten, kleinen Ringen. Die Kernkörperchen dieser Ringe waren rötlich gefärbt.

Die Tatsache, daß wir 17 Tage lang, trotz starker Blutverdünnung, zugrunde gehende Parasitenformen fanden (wir hätten vielleicht zugrunde gehende Parasitenformen auch in den folgenden Tagen gefunden, haben aber die Untersuchungen abgebrochen, weil wir die bereits gemachten als für unsere Zwecke ausreichend betrachteten), ist unserer Meinung nach von großer Bedeutung; einerseits sind wir gewissermaßen zu der Annahme berechtigt, daß einzelne Parasiten den Entwickelungszyklus durchmachen, was unter anderem vielleicht durch die Tatsache bewiesen wird, daß wir am 14. Tage 2 kleine Ringe fanden; allerdings ist es uns nicht gelungen, diesen Entwickelungszyklus an Ausstrichpräparaten wahrzunehmen. Andererseits können wir annehmen, daß unter den künstlichen Lebensbedingungen des Plasmodium vivax die Kerne dieser Parasiten sich sehr lange halten können, während das Protoplasma relativ frühzeitig zugrunde geht. Sind einmal die Kerne erhalten, so sind die Parasiten noch nicht zugrunde gegangen, und es wird folglich bei weiterer Vervollkommnung des Kulturverfahrens vielleicht gelingen, nach vielen neuen Aussaaten in den Kulturen Parasiten zu finden, deren Protoplasma gut gefärbt sein wird.

Bei dieser Gelegenheit möchten wir die Frage streifen, ob ein überschüssiger Zusatz von 50-proz. Dextroselösung das Wachstum der Parasiten beeinflußt. Wir haben uns überzeugt, daß bei einigen Aussaaten von Blut, welches Plasmodium vivax enthielt, ein überschüssiger Zusatz jener Zuckerlösung auf das Wachstum der Parasiten einen schädlichen Einfluß nicht ausübte.

4) Das letzte Experiment machten wir mit dem Blute eines 9-jährigen Knaben, welcher 2 Monate lang an Malaria erkrankt war, und in den letzten $1^1/_2$ Wochen täglich Anfälle hatte. Vor der Aufnahme in die

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:13 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Klinik wurde der Knabe von seiner Mutter mit Eucalyptus-Aufguß behandelt. Der Knabe ist sehr blaß, der Ernährungszustand herabgesetzt. Bei der Palpation erweist sich die Milz vergrößert und hart; sie senkte sich 4 cm unterhalb des Rippenbogens. Von den der V. ulnaris dieses Patienten zu experimentellen Zwecken entnommenen 10 ccm Blut wurden 2 ccm mittels Pipette in ein Reagensgläschen gebracht, welches dann ca. 5 Minuten lang zentrifugiert wurde. Nach 24 Stunden wurde aus diesem Reagensgläschen die erste Aussaat gemacht, nach 2 Tagen die zweite usw. Dann wurden sowohl die Reagensgläschen als auch der Zylinder mit dem zurückgebliebenen Blute im Brutschrank bei einer Temperatur von 40° C aufbewahrt. Nach 24 bzw. 30 Stunden entnahmen wir mittels steriler Pipette aus dem Zylinder Blut aus der oberen Schicht der Blutsäule und vom Boden. Von diesem Blute machten wir Ausstrichpräparate, bei deren mikroskopischer Untersuchung bei beiden Methoden der Blutentnahme Plasmodium vivax konstatiert wurde.

Diese Befunde widerlegen die Behauptung von Bass, nach welcher in der Blutsäule unterhalb einer Schicht von 1—5 mm die Parasiten nach 2—20 Stunden zugrunde gehen. Jedoch war die Anzahl der Parasiten in den oberen Schichten der Säule nach unseren Beobachtungen merklich größer als in den unteren Schichten.

Wir möchten noch nebenbei folgendes Detail berühren: Wie ist das Blut, welches der Blutsäule im Zylinder oder dem Reagensgläschen entnommen wurde, auszustreichen? In Anbetracht des Umstandes, daß die roten Blutkörperchen beim Stehen der Reagensgläschen und Stehen des Zylinders im Brutschrank sich sehr fest niederschlagen und die mittels steriler Pipette gehobenen roten Blutkörperchen sich auf dem Objektträger in sehr dicker Schicht verteilen, haben wir stets in dieselbe Pipette aus dem Reagensgläschen oder aus demselben Zylinder eine gewisse Quantität ascitischer Flüssigkeit oder Blutserums angesaugt. Bei dieser Art von Blutentnahme ließen sich Ausstrichpräparate leicht herstellen; fast ohne jeden Druck mit dem Rande des das Blut ausstreichenden Objektträgers auf die Oberfläche des anderen Objektträgers entstanden feine Ausstrichpräparate, wobei die roten Blutkörperchen nebeneinander zu liegen kamen; beim Ausstreichen von unverdünnten roten Blutkörperchen war es durchaus notwendig, mit dem Rande des Objektträgers fest zu drücken, wodurch die Parasiten stark deformiert oder sogar zerstört wurden.

Nun noch einige Worte über die Leukocyten, die in den Ausstrichpräparaten vom aus dem Zylinder entnommenen Blute vorkommen. Ob der Zerfall der Leukocyten beim Wachstum des Plasmodium vivax im Zylinder eine wichtige Rolle spielt, läßt sich schwer sagen; wir haben uns aber überzeugt, daß Phagocytose hier fast fehlt, da wir bei der Untersuchung von zahlreichen Blutausstrichpräparaten nur 2mal polynukleäre fanden, in deren Protoplasma Parasiten zu sehen waren.

Auf Grund des Studiums der Ausstrichpräparate vom Blute, welches wir bei den Experimenten mit der Kultivierung des Plasmodium vivax erhalten haben, glauben wir folgende Thesen aufstellen zu können:

1) Wir haben mittels der von Bass vorgeschlagenen Methode in den Kulturen zwei vollständige Entwickelungszyklen und einen dritten unvollständigen Entwickelungszyklus des Plasmodium vivax beobachtet

2) In der ersten Generation des Plasmodium vivax wurde eine große Anzahl dieser Parasiten beobachtet; es haben sich augenscheinlich

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:13 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

nur die widerstandsfähigeren Formen des Parasiten erhalten; in der dritten Generation gelang es nur, Merozoiten und Schizonten zu konstatieren.

3) Innerhalb 17 Tagen gelang es uns, in den Ausstrichpräparaten, die aus den Kulturen gefertigt waren, solche Parasitenformen zu sehen, wo das Protoplasma sich nicht himmelblau, sondern rosa, die Kerne rötlich oder kirschrot färbten. Augenscheinlich können bei der Züchtung des Plasmodium vivax nach der Methode von Bass die Kerne der Parasiten sich längere Zeit intakt erhalten, während das Protoplasma sich rasch verändert.

4) In Anbetracht des Umstandes, daß wir in den Ausstrichpräparaten vom Blute, welches nach 14-tägiger Kultivierung des Parasiten entnommen war, zwei kleine Ringe festgestellt haben, ist es möglich, daß einzelne widerstandsfähigere Formen des Plasmodium vivax in sehr unbedeutender Qualität sich nicht nur erhalten, sondern auch vermehren können.

5) Bei Aufbewahrung von Blut, welches Plasmodium vivax enthielt, im Zylinder gelang es uns, nur einen Entwickelungszyklus dieser Parasiten zu beobachten, wobei sich die Parasiten sowohl in den oberen als auch in den unteren Schichten der Blutsäule vermehrten.

6) Wenn man in die Reagensgläschen, in die das Plasmodium vivax verpflanzt werden soll, inaktivierte ascitische Flüssigkeit oder Blutserum vom Menschen hinzufügt, so bewirkt dies augenscheinlich keinen Unterschied im Wachstum des Plasmodium vivax.

7) Durch Zusatz von 50-proz. Lösung von chemisch reiner Dextrose in einer größeren Quantität, als von Bass angegeben ist, wurde das Plasmodium vivax in ungünstiger Weise nicht beeinflußt.

8) Beim Anfertigen von Ausstrichpräparaten vom Blute, welches aus dem Zylinder oder aus dem Reagensgläschen genommen wird, muß man in dieselbe Pipette eine gewisse Quantität der oberhalb der roten Blutkörperchen befindlichen Flüssigkeit hineinsaugen, damit beim Ausstreichen ein feines Ausstrichpräparat entsteht.

Zum Schlusse ist es mir eine angenehme Pflicht, dem hochverehrten Herrn Prof. W. K. Menschikow für die Durchsicht der Präparate und für die wertvollen Ratschläge bei der Ausführung dieser Arbeit an dieser Stelle meinen aufrichtigsten Dank zu sagen.

Literatur.

1) Laveran, Traité du paludisme. Paris 1911.
2) Sacharow, Ueber den Einfluß der Kälte auf die Lebensfähigkeit der Malariaparasiten. (Centralbl. f. Bakt. Bd. 15. p. 158.)
3) Corunado, Reproduction del hematozoario di Laveran. (Cronica med. guirurg. d. Habana. 1892. No. 22; zit. nach Gurko, 9).
4) Kubassow, Ueber die Pilze des Paludismus. 1895; zit. nach Gurko, 9.
5) Marzinowski, Medizinische Mikrobiologie. Bd. 2. 1913. p. 72.
6) Bass, C. C., Successfull cultivation of malarial plasmodia. (Ref. in Zeitschr. f. Immunitätsf. Bd. 6. 1913. p. 738.)

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:13 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

7) Olpp, Die Reinkultur von Malariaplasmodien nach Bass und Johns. (München. med. Wochenschr. 1912. p. 2623.)
8) Schukow, N. M., Ueber die Kulturen des Malariaparasiten. (Med. Obosrenie. 1913. p. 148.)
9) Gurko, A. G. und Hamburger, K. E., Vorläufige Mitteilung. Zur Frage der Kultivierung der Plasmodien der tropischen Malaria nach der Methode von Bass. (Med. Obosrenie. 1913. p. 359.)
10) Bass, C. C. und Johns, Forster, M., The cultivation of malaria Plasmodia (Plasmodium vivax und falciparum) in vitro. (Ref. in Zeitschr. f. Immunitätsforsch. Bd. 6. 1913. p. 735.)
11) Ziemann, Ueber die Basssche Kultur der Malariaparasiten in vitro und die daraus sich ergebenden Resultate. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 67. 1913. p. 482.)

Nachdruck verboten.

Eine endoparasitäre Milbe in der Lunge von Macacus rhesus.

[Aus der Königlich chirurgischen Universitätsklinik Breslau (Direktor: Geheimrat Prof. Küttner).]

Von

Felix Landois, Privatdozent für Chirurgie in Breslau. und **Hermann Hoepke,** in Greifswald.

Mit 1 Tafel u. 3 Textfiguren.

Kein Gewebe des Menschen und der Säuger ist immun gegen die Invasion tierischer Parasiten. So häufig wir in den inneren Organen Trematoden, Cysticerken, Distomum-Arten, Echinokokken, Filarien, die verschiedenen Strongylus-Formen u. a. antreffen, so selten sind bisher Milben endoparasitär beobachtet worden.

Da Acariden als Verunreinigungen sekundär zu Exkreten und Sekreten hinzutreten, ist man mehreren Mitteilungen in der Literatur mit einiger Skepsis begegnet, und lange Zeit hat man die Möglichkeit eines Endoparasitismus von Milben überhaupt geleugnet. Erst in neuester Zeit sind einwandfreie Beobachtungen publiziert worden, die beweisen, daß Milben in inneren Organen tatsächlich leben können.

Da die Erfahrungen über endoparasitäre Milben nach den bisher vorliegenden Arbeiten nur gering sind, so verdient jede Mitteilung dieser Art Beachtung, weil sie nicht nur unsere Kenntnis auf dem Gebiete der tierischen Parasiten erweitert, sondern vielleicht sogar auch die Familie der Milben um eine neue Form bereichert.

Von diesem Gesichtspunkte aus glauben wir auch, die nachfolgende Beobachtung der Oeffentlichkeit übergeben zu dürfen.

I. Die bisherigen endoparasitären Milbenbefunde.

Die erste Mitteilung einer endoparasitären Milbe bei Menschen verdanken wir Miyake und Scriba in Tokio 1893, die bei einem an Hämaturie und Fibrinurie leidenden, 37-jährigen Japaner im Urin im Verlaufe von etwa 8 Tagen 25 Milben und 6 Eier fanden. Diese Milbe, die die beiden Untersucher Nephrophages sanguinarius genannt haben, rechnen sie zu den Sarcoptiden und glauben, daß der Parasit in den Nieren saß und in ursächlichem Zusammenhang mit dem klinischen Bilde der Hämaturie stand. Die Größenverhältnisse der mit dem Urin entleerten Tiere, die übrigens alle tot waren, sind folgende:

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:13 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

männliche: Länge: 0,117 mm
Breite: 0,079 „ im Durchschnitt
weibliche: Länge: 0,360 „
Breite: 0,120 „
und bei einem anderen Weibchen:
Länge: 0,200 mm
Breite: 0,80 „

Die 4 Beinpaare sind 5-gliederig und gleich lang. Die vorderen haben gestielte Haftlappen, das hintere Paar besitzt je eine Kralle. Cephalothorax und Abdomen sind deutlich abgegrenzt, die Haut ist gestreift und mit Schilden besetzt. Der Kopf trägt zwei große, runde Augen.

Einige Jahre später (1899) hat dann Marpmann in Leipzig in einem ihm zur Untersuchung übersandten Urin eine einzige Milbe gefunden, die in ihrer Form an die Tyroglyphiden erinnerte und eine Länge von 240 μ und eine Breite von 98 μ aufwies. Die Acaride wies ferner einen spitzen Kopf und 4 gleich große Fußpaare auf, die mit spitzen Borsten besetzt waren. Saugscheiben waren nicht vorhanden. In späteren, zur Untersuchung gesandten Urinproben wurden, wie das erste Mal, Spuren von Nukleoalbumin, Harngries usw., aber keine Milbe mehr gesehen.

Ebenfalls im Urin eines Kranken, der an Harnblasenentzündung litt und sich selbst lange Zeit regelmäßig seine Blase ausgespült hatte, wurden in Java von I. de Haan Milben entdeckt. Diese Acaride, die von Banks in Washington genau bestimmt wurde, erhielt die Bezeichnung Carpoglyphus alienus und gehört ihrem Bau nach zu den Tyroglyphiden. Cephalothorax und Abdomen gehen bei dieser Form ohne Grenze ineinander über und sind mit einzelnen Haaren besetzt. Die Beine, 8 an der Zahl, sind ziemlich lang und dünn und mit breiten Krallen versehen. Die Vulva steht weit vorn und zeigt zwei gegabelte Linien und auf jeder Seite 2 kreisrunde Saugnäpfe. Die männliche Geschlechtsöffnung liegt weiter nach dem Abdomen zu und ist fast 3mal so lang als breit. Auch ihr zur Seite stehen 2 kreisrunde Saugnäpfe.

Nachdem in der älteren Literatur schon einige Beobachtungen über Milben im Stuhl des Menschen gemacht worden sind, hat in neuester Zeit Tsunoda in Japan bei einem schwer anämischen Individuum von 51 Jahren im Stuhl massenhafte Milben aufgefunden, die er, da Männchen, Weibchen, Larven und Eier in Menge vorhanden waren, genau bestimmen konnte. Die Charakteristika dieser Glyciphagus-Art sind folgende:

Weibchen: Länge: 0,075—0,083 mm
Breite: 0,046—0,058 „
Männchen: Länge: 0,053—0,072 „
Breite: 0,038—0,042 „

Die 8 Beine sind 5-gliederig und mit Endklauen versehen, die Chitinhaut ist mit Borsten besetzt, Cephalothorax und Abdomen gehen ohne Grenze ineinander über. Die Tiere haben keine Tracheen und keine Augen und besitzen jederseits neben der Geschlechtsöffnung ein Saugorgan für die Kopulation, das an der ventralen Seite des Abdomens liegt.

Tièche berichtet, daß er bei 3 an Prurigo Hebrae leidenden Patienten im Stuhl Milben, die er zu den Tyroglyphiden rechnet, gefunden hat, und zwar hat er Männchen, Weibchen, Larven und Eier gesehen. Schon früher hatte er Patienten mit demselben Prurigo behandelt, und

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:14 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

in ihrem Stuhl ebenfalls alle Wachstumsformen beobachten können. Gastrointestinale Störungen lagen bei den Patienten nicht vor.

Schließlich sei noch kurz erwähnt, daß Blanc und Rollet bei einer an Cystitis leidenden Patientin Milben fanden, und Huber einige Autoren aufzählt, die im Erbrochenen einer an Magenkrebs leidenden Frau (Reinhardt), im Eiter des Ohres (Leroy de Mericourt), und im dysenterischen Stuhl (Lambl), Tyroglyphiden beobachten konnten.

Bei den ersten Publikationen haben wir uns die Frage vorzulegen, handelt es sich tatsächlich um echten Endoparasitismus, oder sind die Milben durch Verunreinigung von außen erst in den Urin hineingelangt, oder in die Blase der Kranken durch schmutzige Katheter eingeführt worden.

Van der Harst hat wiederholt in Urinen Acariden aufgefunden; er konnte aber in allen Fällen den Nachweis erbringen, daß die Tiere in den Zellen des Korkes, mit denen die Uringefäße verschlossen waren, gelebt hatten und sekundär in den Harn gelangt waren. Meist hat es sich um Tyroglyphus putrescentiae und Glycyphagus privatus gehandelt. Mit einem ähnlichen Vorkommnis müssen wir bei der Mitteilung von Marpmann rechnen, der nur eine einzige tote Milbe in einem Urin gefunden hat. Wenigstens beweist dieser Befund nichts für einen Endoparasitismus.

Auch I. de Haan behandelt seinen eigenen Milbenfund im Urin des Holländers mit Skepsis und zieht die Möglichkeit in Betracht, daß die Tiere mit den verunreinigten Katheter in die Blase gelangt sind.

Am ehesten für einen Endoparasitismus zu verwerten erscheint uns der Fund der beiden Japaner Miyake und Scriba. Allerdings haben auch sie nur tote Milben gefunden, die auch von außen in die Blase gebracht sein können. Außerdem sind von Oudemans verschiedene Zweifel in bezug auf die Art und das sonstige Vorkommen dieser Milbengattung erhoben worden.

Braun (p. 360) mahnt bei allen Milbenfunden, die in Exkreten und Sekreten gemacht werden, zu größter Vorsicht, da Fehlerquellen nicht auszuschalten sind, besonders wenn es sich um die Tyroglyphiden handelt, die an Nahrungs- und Genußmitteln leben und gelegentlich auch in Trink- und Eßgeschirren angetroffen werden. Ebenso bedürfen die von Dahl, Saul, Reuter und Borrel gemachten Milbenfunde in bösartigen Geschwülsten noch einer weiteren Bestätigung.

Anders steht es mit der Beobachtung von Tsunoda. Aus seiner Beschreibung von geschlechtsreifen Tieren, aus dem Funde von Larven und Eiern geht hervor, daß die Tiere im Stuhl tatsächlich gelebt haben, daß es sich bei der von ihm charakterisierten Glyciphagus-Art um einen echten Endoparasitismus beim Menschen handelt.

Tièche dagegen sagt selbst, daß bei den von ihm beschriebenen Fällen nur vorübergehender Parasitismus vorliegt. Die Milben sind aller Wahrscheinlichkeit nach auf milbenhaltigen Nahrungsmitteln in den Darm gelangt und haben dort einige Zeit gelebt. Eine kausale Bedeutung für den, übrigens bei nicht allen Patienten vorhandenen, Prurigo Hebrae hält er für unwahrscheinlich.

Beweisend für einen Endoparasitismus von Acariden sind vor allem solche Fälle, bei denen mitten im Gewebe, womöglich in einem cystenähnlichen Gebilde, Milben entdeckt worden sind. In diesem Sinne sind für den Menschen nach unserer Auffassung als unbedingt zuverlässig die Mitteilungen von Trouessart 1900 und Castellani in Colombo

Generated on 2019-09-15 15:14 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

1907 zu verwerten. Trouessart entleerte durch Punktion aus einer dem Hoden ansitzenden Cyste eine eiterige Flüssigkeit, in der er Milben vom Typus der Tyroglyphiden, und zwar reife Tiere und Eier, in Menge fand. Für die Form, die eine Größe:

Männchen: 0,25 mm
Weibchen: 0,32 „

aufwies, hat er den Namen Histiogaster spermaticus vorgeschlagen. Der Patient war in Indien katheterisiert worden. Selbst wenn man mit Trouessart zugibt, daß auch in diesem Falle die Milben durch den Katheter von außen übertragen worden sind, handelt es sich doch zum mindesten um einen fakultativen Endoparasitismus (Braun), eben weil die Tiere in einer abgeschlossenen Cyste gesessen haben.

Im großen Netze eines an Schlafkrankheit verstorbenen Beganda-Eingeborenen entdeckte Castellani 1907 ein cystenähnliches Gebilde, in dem er eine Acaride weiblichen Geschlechtes von 0,55 mm Länge fand, die dem Cytoleichus sarcoptoides (Mégnin) außerordentlich ähnelte. Der Körper des Tieres ist oval, die Palpi sind kurz, die Beine bestehen aus 6 Gliedern und haben keine Haare.

Bei Tieren wurde im Jahre 1847 von Allman zum ersten Male eine schmarotzende Milbe in der Nasenschleimhaut der Kegelrobbe (Halichoerus gryphus) aufgefunden — die erste endoparasitäre Milbe überhaupt. Dieses Tier, das durch Kramer im Jahre 1885 eine genaue Bearbeitung erfahren hat, führt den Namen Halarachne halichoeri Allm. und gehört zur Gattung der Gamasiden. Aus der sehr eingehenden Beschreibung seien einige Punkte hier angeführt: Die Länge des Tieres beträgt nahezu 3 mm, die Breite 1 mm. Sie ist damit wohl die größte bisher beobachtete endoparasitäre Milbe. Der Rumpf ist ungegliedert. Das Capitulum sehr klein. Die Füße, 8 an der Zahl, sind sämtlich 6-gliederig, aber nicht vollkommen gleichartig. Dem letzten Gliede sitzt ein stark entwickelter Krallenapparat auf, außerdem noch ein Haftlappen. Ganz außerordentlich gut entwickelt ist die Muskulatur, die Muskelzüge zum Capitulum und zu jedem Beinpaare entsendet.

Bei Hühnern sind endoparasitäre Milben im Unterhautfettgewebe, sowie in den Luftsäcken schon seit langen bekannt: Laminosioptes gallinarum (Mégnin) und Cytoleichus sarcoptoides (Mégnin). Wir verweisen auf die Originalarbeiten von Mégnin.

Ferner hat im Jahre 1866 Robertson eine Milbe auf der Oberfläche des Pericards und in dem Bindegewebe um die großen Halsgefäße einer Taube (Columba livia) beschrieben.

Sehr interessant ist die Entdeckung von Rosenkrantz, der als Ursache eines seuchenhaften Hinsterbens von Hühnern eine, wie er glaubt, Sarcoptes ähnliche Milbe entdeckt hat. Die Hühner magern bei Lebzeiten stark ab, sie können sich nicht mehr auf den Füßen halten, das Gefieder sträubt sich und der Kamm wird welk. Bei der Sektion findet sich die Bauchhöhle übersät mit kleinen, sandkorngroßen Knötchen, die sich mikroskopisch als Milben erweisen. Die Tiere haben 8 Beine, die mit Haftscheiben versehen sind. Rosenkrantz hält sie für Cytodites nudus.

Das Merkwürdige dieser schönen Beobachtung ist, daß endoparasitäre Milben die Ursache einer deletären Tierseuche sind. In dieser Hinsicht dürfte die Mitteilung von ganz besonderem Werte sein.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:14 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Identisch in manchen Punkten mit unserer gleich näher zu beschreibenden Beobachtung ist der von den holländischen Forschern I. De Haan und Grijns 1900 gemachte Milbenfund. Bei der Sektion eines Affen (Cynocephalus) wurden in den Lungen des Tieres Knötchen, die die Größe eines Reiskornes erreicht hatten, gesehen. In diesen Knötchen, die in der Mitte meist erweicht waren, wurden Milben von 0,7—0,8 mm Länge gefunden, die von Dr. Banks in Washington den Namen Pneumonyssus simicola erhalten haben und zu den Gamasiden gehören. Das Wichtigste sei hier wiedergegeben: Der Körper des Tieres ist doppelt so lang wie breit. Länge 0,8 mm. Beine kurz, 6-gliedrig, am letzten Gliede zwei auseinander weichende Krallen, unter denen sich bei einigen Exemplaren, wahrscheinlich den Weibchen, ein breiter Pulvillus befindet. Alle Glieder sind mit Borsten besetzt, von denen sich 4 kleine auch auf der Rückseite finden. Zwischen den Coxae des letzten Beinpaares befindet sich eine quere Furche, wahrscheinlich die Geschlechtsöffnung. Im Jahre 1906 ist sodann von Newstead und Todd ein endoparasitärer Milbenfund ebenfalls bei Affen erhoben worden. Die Arbeit war uns leider nicht zugänglich, so daß wir Einzelheiten nicht haben ersehen können. Interessant ist auch die Mitteilung von Wellmann, Creighton und Wherry, die in der Lunge von Otospermophilus beecheyi die Milbe Cytoleichus banksi gefunden haben. Zu diesen Mitteilungen fügen wir jetzt unsere eigene, an Macacus rhesus gemachte Beobachtung hinzu.

II. Eigene Beobachtung.

In den letzten Jahren ist an der Küttnerschen Klinik in Breslau mehrfach die freie Knochentransplantation zur Deckung von Defekten vom Affen auf den Menschen ausgeführt worden, ein Verfahren, das von

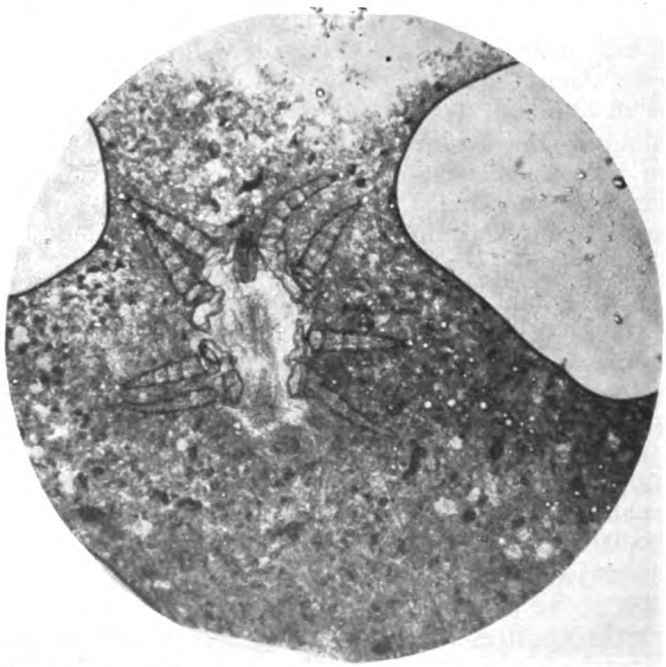


Fig. 1. Milbe in der Höhle, umgeben von körnigem Detritus. Frisches Präparat. Mikrophotographie.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:14 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Küttner zur Methode erhoben ist und über deren Ergebnisse er vor kurzem in Langenbecks Arch. Bd. 102 berichtet hat.

Notwendig ist, daß der Affe, der Spender des Knochenmaterials, vor der Operation seziert wird, und daß vor allem die Tuberkulose, an der diese Tiere in unseren Breiten so häufig leiden, auszuschalten ist.



Fig. 2. Zwei Milben in einer Höhle von körnigem Detritus umgeben. Frisches Präparat. Mikrophotographie.

Zu einer solchen Operation am 26. Mai 1913 wurde ein weiblicher Macacus rhesus seziert. Bei der Obduktion fand sich eine Anzahl von Knoten, die anfangs den Verdacht einer Tuberkulose sehr nahe legten, die aber auf Grund der sofort vorgenommenen frischen Untersuchung des Materials (Dr. Landois) den merkwürdigen Befund von lebenden endoparasitären Milben ergaben (Textfig. 1 u. 2).

Makroskopisches Verhalten der Knötchen.

In jede Lunge eingestreut sind etwa 8—10 runde Knötchen, die im Parenchym, vorwiegend aber unter der Pleura pulmonalis liegen, so daß sie durch diese hindurchschimmern. Sie stehen nicht mit einem Bronchus in Kommunikation. Die Farbe ist graugelb bis hellgelb. Auf dem Durchschnitt zeigen die kleineren, etwa linsengroßen Knoten eine trockene Beschaffenheit und eine gleichmäßige Schnittfläche. Die größten von ihnen, die fast Erbsengröße erreichen, dagegen sind in der Mitte zerfallen und es läßt sich aus ihnen körniger Detritus entleeren. Mit bloßem Auge, noch besser unter Zuhilfenahme einer Lupe kann man in diesem Detritus einen oder mehrere grauweiße, winzige Körper entdecken, die der Milbe entsprechen und durch das Mikroskop als solche zu identifizieren sind.

Generated on 2019-09-15 15:14 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Mikroskopisches Verhalten der Knötchen.

Die Knötchen wurden frisch untersucht, sodann wurden Paraffinschnitte, die mit Hämatein-Eosin, Giemsa und Weigerts Lösung für Elastica gefärbt waren, durchgemustert.

Die kleinsten dieser Knötchen setzen sich teils aus runden, teils aus spindeligen Zellen zusammen, die die Alveolen der Lunge vollkommen ausfüllen. Zwischen ihnen liegen vereinzelte Leukocyten. An mehreren Stellen liegen große Haufen von amorphem Pigment, das durch runde, klumpige Form und durch rostbraune Farbe charakterisiert ist, frei im Gewebe. Zum Teil aber liegt dieses Pigment intracellulär, und zwar in großen epithelähnlichen Zellen mit einem Kern, die zu Haufen angeordnet und infolge des Pigmentgehaltes leicht bräunlich verfärbt sind.

Die mikrochemische Untersuchung des Pigments auf Eisen mit Ferrocyankalium und Salzsäure fällt negativ aus.

In den kleinsten Knötchen haben wir Milben nicht gefunden, auch keine Bestandteile von ihnen. In den größten Knötchen ist das Zentrum vollkommen erweicht. Das Gewebe ist zugrunde gegangen und an Stelle dessen finden wir einen Hohlraum, der mit verfettetem, körnigem Detritus ausgefüllt und dessen Wand mit polynukleären Leukocyten reichlich durchsetzt ist.

Die Färbung auf elastische Fasern ergibt, daß, je weiter nach der Mitte zu, die elastischen Fasern in den Knötchen immer seltener werden, um schließlich ganz zu fehlen.

Die in den Höhlen dieser Knötchen entdeckten, noch lebenden Parasiten wurden isoliert und auf Grund des Vorhandenseins von 8 Beinen sofort als Milben angesprochen.

Zur Kontrolle schickten wir eine Lunge des Affen unversehrt nach Greifswald an das Pathologische Institut (Geheimrat Grawitz), wo von Hoepke die Tiere ebenfalls gefunden wurden.

An demselben Tage wurde von uns in Breslau auf den Rat von Herrn Geheimrat Pfeiffer mit dem Inhalte eines Knötchens ein anderer Macacus aus dem Bestande der Chirurgischen Klinik geimpft. Und zwar wurde unter der Lupe ein Knötchen, das eine lebende Milbe enthielt, mit Nadeln fein verteilt, und die Bestandteile samt dem Tier in physiologischer Kochsalzlösung suspendiert. Durch eine lange und dicke Kanüle wurde mit der Spritze der Inhalt dem Affen durch die Interkostalräume hindurch in die rechte Lunge injiziert.

Das Tier lebte bis zum 29. Nov. 1913. Dann ging es an einem borkigen Ekzem des Gesichtes sowie der ganzen rechten Körperhälfte spontan zugrunde.

Bei der Sektion fand sich, entsprechend der Injektionsstelle, ein gut erbsengroßer Knoten im Unterlappen der rechten Lunge, in dem aber keine Milbe oder Milbeneier vorhanden waren.

In einem weiteren Knoten am Hilus der linken Lunge wurde die Milbe gefunden. Sehr viel ist mit diesem Befunde nicht anzufangen, da nur eine Milbe übertragen und auch nur eine gefunden worden ist. Immerhin hat die Milbe auf dem zweiten Affen weitergelebt und muß auf dem Lymphwege zur linken Lunge gelangt sein.

Zu einer Vermehrung der Acariden ist es aber nicht gekommen. In dem borkigen Ekzem des Gesichtes und der Haut, sowie in der Nasenschleimhaut waren keine Milben nachzuweisen.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:14 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Generated on 2019-09-15 15:14 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Digitized by Google

Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

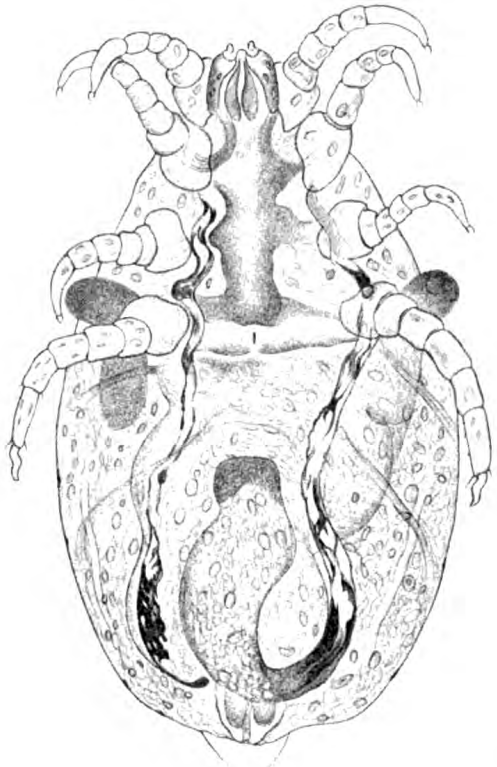


Fig. 1.



Fig. 3

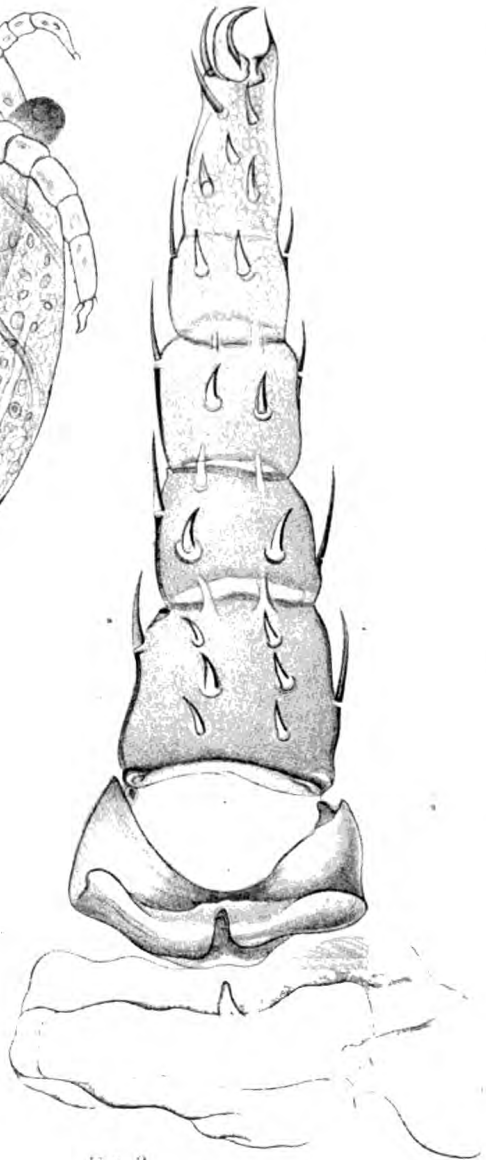


Fig 2.

Verlag von Gustav Fischer in Jena. Lith. Anst. v. Johannes Arndt, Jena.

Generated on 2019-09-15 15:14 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

In der Zeit vom Mai bis Dezember 1913 sind zwei weitere Affen aus dem Bestande der Klinik an demselben Ekzem spontan verendet. Die sorgfältige Untersuchung der inneren Organe, auch der Lymphdrüsen der Bauchhöhle, hat keine Milben mehr zutage gefördert, so daß eine Milbenendemie nicht vorliegt.

Zoologischer Teil (Hoepke)

[nach Bearbeitung des Materials im Pathologischen Institut (Geheimrat Prof. Grawitz) und im Zoologischen Institut (Geheimrat Prof. G. W. Müller-Greifswald).]

Von den in der Lunge von Macacus rhesus gefundenen Milben lagen leider nur 4 brauchbare Tiere zur Untersuchung vor. Davon wiesen 3 noch keinerlei innere Organe auf, nur das 4. stellt ein entwickeltes, geschlechtsreifes Tier dar [1]).

In den oben geschilderten Knötchen der Lunge waren die Milben gerade noch mit bloßem Auge als stark glänzende, weiße Körnchen zu erkennen. Die mikroskopische Betrachtung ungefärbter Tiere ließ nur ganz wenig Einzelheiten klar zutage treten. Erst nach Behandlung mit Alkohol und Aufhellung mit Kreosot waren die Gliederung der Extremitäten, die Mundwerkzeuge und die Körperöffnungen deutlich zu erkennen. Die inneren Organe färbten sich mit Karmalaun sehr gut.



Fig. 3. Milbe isoliert. Ungefärbt. Mikrophotographie.

Während die jüngeren Tiere außerordentlich schlank erscheinen (0,448 mm lang, 0,140 mm breit) (Textfig. 3), ist das ältere Tier bedeutend breiter und plumper. Sein größter Querdurchmesser dicht hinter dem letzten Beinpaar beträgt 0,308 mm. Seine Länge ist 0,588 mm (Tafelfig. 1).

Sämtliche Tiere haben 8 Beine, keines von ihnen ist demnach mehr im Larvenstadium, auch die 3 jüngeren Tiere haben mindestens schon eine Häutung durchgemacht.

Cephalothorax und Abdomen gehen ohne Abgrenzung ineinander über. Der ganze Körper ist von einer dünnen Chitindecke bekleidet, die hier und da feinste Wabenstruktur erkennen läßt. Das ganze Abdomen ist unbehaart. Der Cephalothorax trägt auf seiner dorsalen Seite 4 Paar Haare, deren erstes unmittelbar hinter dem Capitulum, deren letztes etwas vor der das 4. Beinpaar verbindenden Chitinspange steht.

Beine (Tafelfig. 3). Das erste Beinpaar befindet sich unmittelbar neben dem Capitulum, das zweite folgt dem ersten ohne Zwischenraum. Vorder- und Hinterbeine lassen nur eine ganz kleine Lücke zwischen sich. Durch besondere Stärke oder Apophysen irgendwelcher Art ist kein Bein vor dem anderen ausgezeichnet, nur wenig überragt das letzte die übrigen an Länge. Diese gleichmäßige Entwickelung deutet darauf hin, daß alle untersuchten Tiere Weibchen sind. Die durchschnittliche Länge der Extremitäten beträgt 0,25 mm.

1) Herrn Dr. Baunacke, Greifswald, sind wir für seine Ratschläge bei der Bearbeitung der Milben zu vielem Dank verpflichtet. Die Mikrophotographieen wurden von Herrn Dr. Prausnitz, Breslau und Herrn cand. phil. Günther, Greifswald angefertigt. Die Zeichnungen stammen von Herrn Häger, Greifswald. Auch ihnen sagen wir Dank.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:14 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Die Beine sind 6-gliedrig, sublateral eingelenkt und tragen an allen Gliedern, mit Ausnahme der beiden ersten, Borsten und Haare, die von einem kleinen Chitinwall umgeben sind. Am Endglied ist, wie es bei vielen Gamasiden der Fall ist, eine ringförmige Querlinie zu erkennen, die Kramer noch als Gelenk ansah, was Winkler aber wegen der fehlenden Muskelinsertion mit Recht bestritten hat.

Die drei ersten Beinpaare endigen mit je 2 Krallen, einer stärkeren, gebogenen und einer schwächeren, geraden, die sich der Konkavität der ersten zuwendet. Der gekrümmten Kralle zur Seite stehen zwei längere Haare. Das letzte Beinpaar dagegen trägt einen breiten, gestielten Haftlappen, an dessen Ursprung neben 3 Borsten ein langes Haar steht. In seinem mittleren Teil erkennt man 2 Paar nach auswärts gerichteter Haare.

Interessant ist der Unterschied in der Ausbildung der Beine bei den verschiedenen Milben. Pneumonyssus simicola zeigt an allen Extremitäten Krallen, Cytoleichus sarcoptoides überall Haftscheiben, Laminosioptes solche nur an den beiden hinteren Beinpaaren. Umgekehrt wie bei unserem Tier liegen die Verhältnisse bei der von Miyake und Scriba beschriebenen Milbe: Sie hat an den 3 ersten Beinpaaren Haftscheiben, am letzten eine Kralle.

Epimeriten oder ein Sternum fehlen. Nur zwischen den beiden letzten Beinen spannt sich auf der Bauchseite eine Chitinleiste von geringer Stärke aus, die in ihrer Mitte die kurze, längsgestellte Geschlechtsöffnung trägt. Sie hat die Gestalt eines Trichters. Bei der von de Haan und Grijns gefundenen Milbe ist diese Oeffnung quergestellt.

Bei den Gamasiden, zu denen unser Tier fraglos gehört, liegt die weibliche Geschlechtsöffnung zwischen dem 3. oder 4. Beinpaar, die männliche unmittelbar hinter der Kopfröhre oder zwischen den Vorderbeinen. Die Milben, die uns vorgelegen haben, würden somit sämtlich Weibchen sein, mit Ausnahme vielleicht des in Textfig. 1 abgebildeten Tieres. Die Oeffnung erscheint dort etwas länger und weiter nach vorn gerückt. Andererseits ist die Körperform des Tieres nicht mehr ganz erhalten.

Eine postanale Kopulationsöffnung ist nicht vorhanden.

Die Mundwerkzeuge liegen förmlich eingeklemmt zwischen den ersten Gliedern des ersten Beinpaares und ragen kaum über die Körperoberfläche hervor. Die 3-gliedrigen Palpi sind außerordentlich schwer sichtbar, ihr letztes Glied trägt ein langes Haar.

Die Grenze des Darmes (Textfig. 3) zeigt sich als dicke, schwarze Linie. Er erfüllt die ganze Breite des Cephalothorax und wird erst im Abdomen, eingeengt durch andere Organe, schmäler. Kurze Ausbuchtungen reichen bis in die ersten Glieder aller Füße. Der After liegt terminal, etwas ventral und ist von 2 halbmondförmigen Chitinplatten (Afterplatte) umgeben.

Ihm zur Seite stehen 2 kurze, kräftige Dornen und lateral von diesen je ein Haar.

Was die Muskulatur betrifft, so ist die zuerst von Kramer bei Halarachne halichoeri beschriebene Muskelplatte auch hier vorhanden. Sie liegt in der Höhe des 2. und 3. Beinpaares und entsendet in jede Extremität Muskelzüge.

Einen ganz auffallenden Befund zeigt das ältere Tier (Tafelfig. 1).

Zu beiden Seiten des Darmes liegen im Abdomen 2 Gebilde, die sich bis etwas über das 4. Beinpaar erstrecken, und zwischen dem 3. und 4. Bein jederseits ein wenig über die Körperoberfläche hervorragen.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:14 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Das rechte ist ungefähr doppelt so groß wie das linke. Uns ist keine ähnliche Erscheinung bei Milben bekannt geworden.

Es kann sich hier wohl nur um die Exkretionsorgane, die Malpighischen Gefäße, handeln. Sie sind nicht nur bei ausgewachsenen Milben stark entwickelt, sondern erreichen auch im Larven- und ganz besonders im ersten Nymphenstadium eine beträchtliche Ausdehnung. Sie erstrecken sich oft weit in den Cephalothorax bis zum 1. Beinpaar hinein und dringen gar bis in das 3. und 4. Glied der Beine. Das Hervortreten über die Körperoberfläche kann einem endoparasitären, fast unbeweglichen Tiere kaum hinderlich sein.

Die Geschlechtsorgane liegen im Abdomen, und zwar sind sie nur bei dem älteren Tiere vorhanden. Scharf umschriebene, genaue Grenzen lassen sich am unversehrten Tier nur schwer erkennen. Aber das einzige geschlechtsreife Tier wollten wir nicht in Schnitte zerlegen. Es dürften hier mit Sicherheit Ovarium und Uterus vorhanden sein.

Wenn das vorliegende Material auch sehr gering ist und Larven gar nicht gefunden worden sind, so geht aus dem Bau der Tiere wie aus ihrer Aehnlichkeit mit Pneumonyssus simicola doch klar hervor, daß sie zur Klasse der Gamasiden gehören. Sie stellen ein neues Genus und eine neue Species dar.

Wir schlagen den Namen **Pneumotuber macaci** vor.

Es sind nach den oben erwähnten Arbeiten als endoparasitäre Milben bisher Gamasiden, Cytoleichien und Tyroglyphiden beobachtet worden. Allerdings sind, worauf wir schon eingangs hingewiesen haben, mehrere der Tyroglyphidenfunde mit Vorsicht und Skepsis zu verwerten, während die Beobachtung von Trouessart einwandsfrei ist. Wenn im Falle Trouessart die Milben wirklich mit einem verunreinigten Katheter in die Blase gelangt und von dort bis in die Gegend des Hodens gewandert sind, so sind diese Milben doch zum mindesten fakultativ endoparasitär gewesen.

Dieselbe Frage, handelt es sich um endoparasitäre oder nur um fakultativ endoparasitäre Acariden, ist auch bei unserer Milbe zu stellen. Die Frage läßt sich aber ohne experimentelle Studien nicht beantworten, ebensowenig diejenige, auf welchem Wege die Tiere in die Lunge gelangt sind. Die Möglichkeit, daß die Acariden an Früchten (Bananen), mit denen die Affen bei uns gefüttert wurden, beim Genusse derselben aspiriert und in die Lunge gelangt sind, erscheint uns deshalb unwahrscheinlich, weil die Knötchen immer mitten im Parenchym der Lunge, entfernt von einem Bronchus, anzutreffen sind.

Höchstens hätten die Tiere sich den Weg mit ihren Mundwerkzeugen von den freien Bronchiolis in das Parenchym bahnen müssen.

Viel wahrscheinlicher erscheint es uns, daß Eier mit der Nahrung schon früher eingeführt worden sind.

Im Darme der Affen hat die Acaride dann die Entwickelungsstadien durchgemacht, durch die Lymphgefäße des Darmes sind die Larven ins Gekröse gewandert und nun durch den Ductus thoracicus in die Blutbahn gebracht. In die Lunge embolisch hineingeschleudert, haben sie dort das Endstadium erreicht.

Das in den Knötchen gefundene Pigment möchten wir als die Exkremente der Tiere betrachten, da nach dem mikroskopischen Bilde der Darm der Milben mit einem braunen Inhalt gefüllt ist.

Daß es sich nicht einfach um altes, amorphes Blutpigment handeln kann, hervorgegangen aus Blutungen, die die Milben an ihrem Standort

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:14 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

erzeugt haben, geht daraus hervor, daß das Pigment nicht eisenhaltig ist.

Die großen, epithelähnlichen Zellen, die mit braunem Pigment beladen sind, leiten wir in ihrer Entstehung von den Alveolarendothelien ab. Sie sind genau so zu bewerten wie die bei manchen Zirkulationsstörungen des kleinen Kreislaufs als Sommerbrodtsche Herzfehlerzellen im Sputum der Kranken bekannten Zellformen.

Eine ganze Reihe von Fragen harrt noch der Erledigung. Sie können allein experimentell durch Impfung gelöst werden, auf einem Wege, den wir schon beschritten haben, auf dem wir aber wegen Mangels an Material nicht weiter gekommen sind. Da in der letzten Zeit in medizinischen Instituten viel an Affen experimentiert wird, so würde es sich bei den spärlichen, bisher erhobenen Mitteilungen von endoparasitären Milben verlohnen, bei allen Sektionen dieser Tiere den Lungen und den anderen Organen, mehr als es bisher geschehen ist, erhöhte Aufmerksamkeit zuzuwenden.

Vielleicht stellt es sich heraus, daß Milben viel häufiger, als man angenommen hat, in inneren Organen zu finden sind.

Gerade deshalb haben wir in diesen, sowohl von Zoologen als auch von Medizinern gelesenen Blättern unsere Beobachtung mitteilen wollen.

Literatur.

Allmann, G., Description of a new genus of trach. Arachn. (Ann. and Mag. of Nat. Hist. Vol. 20. 1847. p. 47.)

Banks, A new genus of endoparas. Acar. (Geneesk. Tijdsch. v. Nederl. Indië. D. 41. 1901. I. p. 334.)

Blanc et Rollet, De la présence chez l'homme de Tarsonemus hominis Dahl. (Compt. rend. Soc. de Biol. T. 69. 1910.)

Borrel, Le problème étiologique du cancer. (Zeitschr. f. Krebsforsch. Bd. 7. 1909. Heft 2.)

Braun, M., Die tierischen Parasiten des Menschen. 4. Aufl. Würzburg 1908.

Canestrini, Giovanni, I gamasi italiani. Padua 1882.

—, Prospetto del acarofauna italiana. Padua 1885.

Castellani, A., Note on an acarid-like parasite found in the omentum of a negro. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 43. 1907. p. 372.)

Dahl, Milben als Erreger von Zellwucherungen. (Dtsche med. Wochenschr. 1910. p. 338.)

—, Milben als Erzeuger von Zellwucherungen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 53. 1910.)

Fürstenberg, Die Krätzmilben der Menschen und Tiere. Leipzig (Engelmann) 1861.

Haan, I. de, Gibt es beim Menschen endoparasitär lebende Acariden? (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 40. 1906. p. 693.)

—, Acariden als endoparasieten. (Geneeskund. Tijdschr. v. Nederl. Indië. D. 45. 1905. p. 415.)

Haan, I. de u. Grijns, G., Eine neue endoparasitäre Acaride. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 30. 1901. p. 7.)

Van der Harst, Mijten in urine. (Pharmaceut. Weekbl. 1903. No. 6.)

Huber, J. Ch., Bibliographie der klinischen Entomologie. H. 2. Acarinen. Jena 1899.

Kramer, Zur Naturgeschichte einiger Gattungen aus der Familie der Gamasiden. (Arch. f. Naturgesch. Jg. 42. 1876.)

—, Ueber Gamasiden. (Ibid. Jg. 48. 1882.)

Kramer, P., Ueber Halarachne halichoerie Allm. (Zeitschr. f. Naturw. Bd. 18. 1885. p. 46.)

Magalhães, P. S. de, Um novo Acariano. (Progr. med. 1877. No. 4.)

Marpmann, Ueber das Vorkommen von Milben im Harn. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 25. 1898. p. 304.)

—, Aus Marpmanns Hygienischem Laboratorium. (Ibid. Bd. 25. 1899.)

Mégnin, Les parasites et les maladies parasitaires. Paris 1880.

—, Mémoire sur l'organisation et de la distribution zoologique des acariens de la famille des Gamasidés. (Journ. de l'anat. et de la physiol. norm. et pathol. 1876.)

Digitized by Google

Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-15 15:14 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Mégnin, Mémoire sur les Acar. paras. du tissu cellul. et des bourses aérienn. chez les oiseaux. (Ibid. T. 15. 1879. p. 123.)
—, Monographie de la famille des Gamasidés. (Ibid. 1876.)
Miyake, H. u. Scriba, J., Vorläufige Mitteilung über einen neuen menschlichen Parasiten. (Berlin. klin. Wochenschr. 1893. p. 374.)
— —, Nephrophages sanguinarius, ein neuer menschlicher Parasit im Urogenitalapparat. (Mitteil. d. k. japan. Univers. Tokio. Bd. 3. 1894. H. 1.)
Newstead and Todd, Thompson Yates Laborat. Rep. 1906.)
Oudemans, Over mijten in de urine en in de nieren. (Med. Weekbl. 1904. No. 12.)
Pagenstecher, Beiträge zur Anatomie der Milben. Bd. 2. 1861.
Reuter, Acari und Geschwulstätiologie. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 54. 1910.)
Robin, Ch. et Mégnin, P., Mémoire sur les sarcoptides plumicoles. (Journ. de l'anat. et de la physiol. 1877.)
Rosenkrantz, Seuchenhafte, allgemeine Kachexie bei Hühnern infolge massenhafter Einwanderung von Cytoditis in das Innere der Bauchhöhle. (Berlin. tierärztl. Wochenschr. 1909. p. 757.)
Saul, Untersuchungen über Beziehungen der Acari zur Geschwulstätiologie. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 55. 1910.)
—, Beziehungen der Acari zur Geschwulstätiologie. (Ibid. Bd. 66. 1912.)
—, Milben in Geschwülsten. (Dtsche med. Wochenschr. 1910. p. 338.)
—, Beziehungen der Acari zur Geschwulstätiologie. (Berlin. klin. Wochenschr. 1911. No. 8.)
Tièche, Ueber massenhaftes Vorkommen von zur Familie der Tyroglyphiden gehörigen Milben im menschlichen Stuhl. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 54. 1910. p. 32.)
Trouessart, Les sarcoptides plumicoles ou analgésinés. Paris 1885.
—, Endoparasitisme accid. chez l'homme d'une espèce de Sarcoptide détriticole. (Arch. de parasit. T. 5. 1902. p. 449; Compt. rend. Soc. de Biol. 1900.)
—, Note compl. sur un Sarcopt. détriticole. (Arch. de parasit. T. 10. 1906. p. 314.)
—, Faux parasit. d'une espèce de Sarcopt. détriticole dans un kyste du testicule chez l'homme. (Compt. rend. Soc. de Biol. Paris. T. 52. 1900. p. 742.)
—, Deuxième note sur l'Histiogaster spermaticus et sa prés. dans un kyste du testic. chez l'homme. (Ibid. T. 52. 1900. p. 893.)
Tsunoda, Eine Milbenart von Glyciphagus als Endoparasit. (Dtsche med. Wochenschr. 1910. p. 1327.)
Wellmann, Creighton and Wherry, Some new internal parasites of the California ground squirrel (Otospermophilus beecheyi). (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 49. No. 17.)
Winkler, W., Anatomie der Gamasiden. (Arb. a. d. Zool. Instit. d. Univers. Wien u. d. Zool. Stat. Triest. Bd. 7. 1888. p. 317.)

Nachdruck verboten.

Trichosoma tuberculatum n. sp.

Von Prof. Dr. **v. Linstow,** Göttingen.

Mit 2 Figuren im Text.

Von Herrn Dr. A. Behucky in Saratow, Mitglied der Biologischen Wolga-Station, erhielt ich Nematoden aus dem Darm von Acipenser ruthenus L., welche einer noch unbekannten Trichosoma-Art angehören.

Geschlechtlich noch unentwickelte junge Tiere sind 3,36 mm lang; die Breite beträgt vorn 0,026 mm, in der Mitte 0,053 mm, hinten 0,035 mm. Der vordere, den Oesophagus mit dem ihn umgebenden Zellkörper enthaltende Körperabschnitt ist länger als der hintere, in dem sich später die Geschlechtsorgane entwickeln; die Länge des ersteren verhält sich zu der des letzteren wie 21 : 16.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:14 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Bei dem geschlechtlich entwickelten Tiere sieht man, daß das Vorderende stark verdünnt ist, und am abgerundeten Kopfende zwei sehr kleine Papillen stehen; das Hinterende ist weniger verschmälert; die sonst bei den Trichosomen seitlich, dorsal und ventral verlaufenden Stachelbänder fehlen hier ganz; der vordere Körperteil mit Oesophagus und Zellkörper ist kürzer als der hintere mit den Geschlechtsorganen. Das Männchen ist 5,81 mm lang, bei einer Breite von vorn 0,026 mm, mitten 0,066 und hinten 0,036 mm. Die Länge des Vorderkörpers verhält sich zu der des Hinterkörpers wie 13 : 14. Der Cirrus ist 0,44 mm lang, nimmt also etwa $^1/_{13}$ der ganzen Tierlänge ein; die Breite beträgt 0,0052 mm. Die Cirrusscheide ist glatt, ohne Stacheln, und wird mitunter nach hinten vorgestülpt, so daß sie den Cirrus überragt (Fig. 1). Der Körper ist dorsal verlängert, und hier stehen jederseits zwei Papillen (Fig. 1).



2.

Das Weibchen erreicht eine Länge von 8,71 mm, und ist vorn 0,035 mm, in der Mitte 0,097 mm und hinten 0,070 mm breit. Der vordere Körperteil mit Oesophagus und Zellkörper verhält sich zu der Länge des hinteren mit den Geschlechtsorganen wie 14 : 19; an der Grenze beider mündet die Vulva. Das Schwanzende ist abgerundet, und der Anus steht fast terminal, nur 0,0088 mm vom Schwanzende entfernt; das Ovarium reicht bis 0,38 mm vom Schwanzende. Die Eier sind 0,083 mm lang und 0,026 mm breit. Die Eischale ist dicht mit runden kleinen Tuberkeln besetzt (Fig. 2). Im Uterus liegen die Eier meistens in zwei Reihen nebeneinander, nur nahe der Vulva liegen sie einreihig.

Ein ganz junges Trichosoma fand ich einst im Darm von Bombinator igneus, das wahrscheinlich erst soeben aus dem Ei geschlüpft war und 1,20 mm lang und 0,076 mm breit war; hier verhielt sich die Länge des vorderen Körperabschnitts mit Oesophagus und Zellkörper zum hinteren wie 9 : 2. (Arch. f. mikr. Anat. Bd. 39. Bonn 1892. p. 327. Tab. 15. Fig. 6—7.)

Ueber die Entwickelung der Trichosomen ist nichts bekannt; sie scheint eine direkte, ohne Zwischenwirt zu sein, wenigstens sind eingekapselte Trichosoma-Larven nie gefunden.

Die Trichosomen kommen nur in Wirbeltieren vor, und zwar sind in Säugetieren gefunden 30, in Vögeln 46, in Reptilien 6, in Amphibien 4 und in Fischen 5 Arten; letztere sind Trichosoma gracile Bellingham aus Merlucius vulgaris, Trichosoma tomentosum Dujardin aus Cyprinus spec.?, Trichosoma brevispiculum v. Linst. aus Blicca bjoerkna, Trichosoma papillosum Fritsch aus Malapterurus electricus, endlich die hier beschriebene Art.



1.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:14 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Nachdruck verboten.

Vergleichende Charakteristik der Gattungen Chapmania Mont. und Schistometra Cholodk.

[Aus dem Zoologischen Laboratorium der Universität Neuchâtel (Schweiz).]

Von **K. J. Skrjabin,** Veterinärarzt.

Mit 2 Tafeln.

Vorliegende Arbeit bezweckt eine allgemeine Charakteristik der Arten der Gattung Chapmania Monticelli 1893 und des ihm verwandten Parasiten, welcher fast zu gleicher Zeit von Prof. Cholodkowsky (St. Petersburg) beschrieben worden ist als Schistometra togata und von Dr. Frank Beddard (London) als Otiditaenia eupodotidis.

Als Material für diese Arbeit benutzte ich einerseits Präparate (Chapmania tapika Clerc und Schistometra togata Cholodk.), welche ich aus Russisch-Turkestan (Aulie-Ata, Syr-Darja-Gebiet) mitgebracht hatte, andererseits zahlreiche Exemplare aller drei in dieser Arbeit untersuchten Arten aus der Sammlung des hochverehrten Prof. Dr. Fuhrmann, welcher sie mir zur vergleichenden Untersuchung liebenswürdig zur Verfügung stellte.

Aus der Untersuchung dieses Materials, wie auch aus der entsprechenden Literatur erzielte ich als Endresultat folgende Ergebnisse. Es erwies sich

1) daß die Art Schistometra togata Cholodk. 1912 aus dem Darme von Otis tarda identisch ist mit dem Parasiten, welcher von F. Beddard unter dem Namen Otiditaenia eupodotidis aus dem Darme von Eupodotis Kori beschrieben worden ist,

2) daß Schistometra togata Cholodk., welche vom Autor der Familie der Dilepinidae (Subf. Paruterinae) zugewiesen worden ist, als typischer Vertreter der Familie der Davaineidae (Subf. Idiogeninae) angesehen werden muß, wobei er sich der Gattung Chapmania Mont. sehr nähert,

3) daß der Scolex des Parasiten, welchen Fuhrmann in seiner Arbeit (2) als von Chapmania tapika Clerc stammend beschrieben hat, zur Art Schistometra togata Cholodk. gehört.

4) Infolge der Auffindung des Scolex von Schistometra togata, welchen Cholodkowsky nicht zu seiner Verfügung hatte, erwies es sich als möglich, die Gattung Schistometra genauer zu diagnostizieren.

5) Es erwies sich notwendig, die Art Chapmania tapika Clerc, hauptsächlich was den Scolex anbetrifft, genauer zu untersuchen, da er in der Arbeit von Clerc (4) nicht vollständig beschrieben worden ist.

6) Der Vollständigkeit halber gebe ich hier die Abbildungen aller Arten, welche zu diesen beiden Gattungen gehören, sowie eine tabellarische Artenübersicht mit den wichtigsten Unterscheidungsmerkmalen.

Während der Ausführung meiner Arbeit erfreute ich mich in weitgehendster Weise der zahlreichen Ratschläge und Weisungen des hochverehrten Prof. Dr. O. Fuhrmann, dem ich hiermit meinen wärmsten Dank ausspreche.

Generated on 2019-09-15 15:14 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Fam. Davaineidae Fuhrm.

Subf. Idiogeninae Fuhrm.

Prof. O. Fuhrmann gibt 1908 (1) für diese Unterfamilie folgende Diagnose: „Davaineiden, welche ein Paruterinorgan besitzen, in welches die Eier vom Uterus oder von Parenchymkapseln aus eindringen"; er rechnet zu derselben zwei Gattungen, Idiogenes Krabbe 1868 und Chapmania Mont. 1893.

Zu diesen zwei Gattungen füge ich eine dritte, Schistometra Cholodk. 1912, hinzu, mit der einzigen Art Schistometra togata Cholodk.

Idiogenes-Arten werde ich in diesem Aufsatze nicht berühren, weil ich die vergleichende Charakteristik derselben in einer anderen Arbeit (9) gebe.

A. Chapmania Monticelli 1893.

Diagnose: „Cestoden, deren Scolex in Form und Bewaffnung demjenigen der Davaineen identisch ist. Die Eier gelangen in einen stark verzweigten Uterus und von da, wie bei Davainea, in Parenchymkapseln, worauf sie in abgelösten Gliedern in ein am Vorderrand gelegenes breites, großes Paruterinorgan gepreßt werden, das eine Kapsel um sie bildet. Die Längsmuskulatur, sehr mächtig, besteht aus mehreren Lagen von Längsmuskelbündeln" [Fuhrmann (1)].

Nur zwei Arten: Chapmania tauricollis Chapm. und Chapmania tapika Clerc [1]).

1. Chapmania tauricollis Chapm. 1876.

(Fig. 1, 4, 8 und 10a.)

Literatur: Chapman (1876), Zschokke (1888, 1895), Fuhrmann (1896 und 1908).

Wirt: Rhea americana Chapm.

Geographische Verbreitung: Zentral-Brasilien.

Diese Art ist von Zschokke (10, 11) beschrieben und in neuester Zeit von Prof. Fuhrmann (3) genauer untersucht worden. Ich werde hier nur die charakteristischen Hauptmerkmale dieser interessanten Art beschreiben.

Die Maximalbreite der Strobila beträgt 4,3 mm, der Scolex ist 0,52 bis 0,53 mm lang, bei einer Breite von 0,58—0,68 mm. Die runden Saugnäpfe haben einen Durchmesser von 0,24—0,28 mm. Das Rostellum mißt in der Breite 0,25 mm und ist mit einer doppelten Hakenkrone versehen. Die Anzahl der Haken beträgt ca. 1000—1200, welche eine Länge von 0,008 mm haben. Die Anordnung der Haken ist eine sehr eigentümliche; sie bilden keinen Kreis, wie das zum größten Teil bei Cestoden der Fall ist, sondern bildet, wie Fig. 1 zeigt, vier besondere Festons.

Diese letzte Form der Hakenlage findet man auch bei einer anderen Art, Chapmania tapika Clerc (Fig. 2), weshalb diese Eigentümlichkeit als Gattungsmerkmal der Arten von Chapmania anzunehmen ist. Diese Hakenlage erscheint als eine Uebergangsform zwischen dem kreisrunden Davainea-Typus und dem von Ophryocotile (Friis), bei welchem letzteren der Hakenkranz in einer stark gewellten Linie verläuft.

1) Als diese Arbeit schon in Druck gesandt worden war, habe ich eine neue, dritte Chapmania-Art aus Bucorax cafer beschrieben, die ich Chapmania unilateralis n. sp. genannt hatte (14).

Generated on 2019-09-15 15:14 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Auf dem Rande der Saugnäpfe fand Fuhrmann Reste einer Hakenbewaffnung. Hals fehlt.

Die Genitalöffnungen wechseln unregelmäßig ab.

In jeder Proglottis sind ca. 80 Hoden, welche einen Durchmesser von 0,1 mm haben. Sie sind zu beiden Seiten der weiblichen Genitaldrüsen angeordnet, wobei sie jedoch auf der Antiporalseite in größerer Menge vorhanden sind, weil der vordere Teil der Poralseite vom Cirrusbeutel eingenommen ist. Der Cirrusbeutel der Proglottiden, welche 2,2 mm breit und 0,11 mm lang sind, reicht bis zur Mittellinie und hat eine Länge von 0,55 mm, bei einer Maximalbreite von 0,11 mm.

Das Vas deferens ist von großen Prostatazellen umgeben.

Die Genitalkloake ist lang, schmal, nach hinten trichterförmig verengert und bei den Proglottiden der oben angegebenen Größe 0,27 mm tief und am Hinterende 0,019 mm breit. Die weiblichen Genitaldrüsen liegen median.

Der Keimstock ist von unregelmäßig gelappter Gestalt. Hinter demselben liegt der Dotterstock, welcher am hinteren Rande der Proglottis anliegt.

Die Vagina hat ein birnenförmiges Receptaculum seminis, welches sich zwischen dem Keimstock und dem Dotterstock befindet. Der Endteil der Vagina verläuft etwas dorsal.

Der Uterus entwickelt sich anfangs vor dem Keimstock, nimmt allmählich die ganze Proglottis ein und läßt nur einen Raum im vorderen Teile derselben für das Paruterinorgan frei. Die Eier haben einen Durchmesser von 0,033 mm, die Embryonalhaken sind 0,021 mm groß. Jedes Ei ist von einer spärlichen Bindegewebshülle umgeben, welche ein verändertes Parenchym vorstellt.

Das Paruterinorgan entwickelt sich im vorderen Teile der Proglottis, und zwar recht spät. Man sieht an den Sagittalschnitten, daß dieses Organ in seinem mittleren Teile eine Einschnürung besitzt (Fig.). Bei den reifen Proglottiden kann man den Eintritt der Eier aus dem Uterus in das Paruterinorgan nicht verfolgen; dieser Prozeß geht erst bei den abgelösten Gliedern vor sich.

2. Chapmania tapika Clerc 1906.

Literatur: Clerc (1906), Fuhrmann (1909, mit Ausnahme des Scolex, welcher, obgleich er zu Chapmania tapika gerechnet worden ist, doch zu Schistometra togata Cholodk. gehört).

Wirt: Otis tetrax (nur!).

Geographische Verbreitung: Europa, Afrika, Asien (Russisch-Turkestan).

Als Wirt dieses Parasiten darf nur Otis tetrax angesehen werden, da Clerc (Ural) und auch ich (Turkestan) ihn nur bei diesem Tiere angetroffen haben. Alle Exemplare der Fuhrmannschen Sammlung, welche sich bei der vergleichenden Untersuchung als typische Chapmania tapika Clerc erwiesen, stammen vom Otis tetrax her. Was die Wirte Otis arabs und Otis tarda betrifft, welche Fuhrmann (2) erwähnt, so erwiesen sich die bei ihnen gefundenen Parasiten als Schistometra togata Cholodk.

Es ist interessant, zu bemerken, daß ich bei der Autopsie zahlreicher Exemplare von Otis tetrax und Otis tarda, die zur gleichen Zeit und in derselben Gegend erlegt worden sind, bei dem ersten Wirt nur Chapmania tapika Clerc, bei dem letzteren aber Schistometra

Generated on 2019-09-15 15:14 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

togata Cholodk. gefunden habe; ich nehme daher an, daß diese Parasiten für die oben genannten Wirte spezifisch sind.

Die Länge der Strobila beträgt nach Clerc 200 mm, bei einer Breite von 3 mm. Meine Exemplare waren 75—80 mm lang und bis 2,5 mm breit.

Die letzten reifen Glieder sind, wie aus Fig. 10b zu ersehen ist, etwas enger als die vorhergehenden, wobei die letzte Proglottide sich immer beträchtlich dadurch von den anderen unterscheidet, daß ihre Länge größer ist als ihre Breite.

Der Scolex ist sehr charakteristisch; bei einer Länge von 0,5 mm hat er eine Breite von 0,6 mm (nach Clerc 0,4 mm), wobei die runden Saugnäpfe einen Durchmesser von 0,2 mm besitzen; die Saugnäpfe sind ganz einfach, und zwar ohne die konischen Anhänge, auf welche Fuhrmann in seiner Arbeit (1909. p. 20) hinweist. Das Rostellum, welches einen Durchmesser von 0,34 mm besitzt, ist mit einer doppelten Reihe von ca. 600 Haken versehen (nach Clerc 300), wobei der Hakenkranz ganz die Form desjenigen von Chapmania tauricollis Chapm. (s. oben) hat, und zwar vierlappig ist. Die Länge der Haken 0,016 mm. Nach Clerc sind die Saugnäpfe auch mit Häkchen versehen, was ich jedoch bei meinen Exemplaren nie habe feststellen können.

Die Muskulatur ist recht entwickelt (Fig. 11).

Die Längsmuskulatur besteht aus zahlreichen, an sich aber ziemlich schwachen Bündeln, deren Durchmesser sehr variiert. Die genaue Anzahl der Längsmuskulaturreihen läßt sich nicht feststellen, weil sie sehr unregelmäßig verteilt sind. Die Transversalmuskulatur ist recht kräftig. Im allgemeinen nähert sich der Bau der Muskulatur dieser Art demjenigen von Schistometra togata Cholodk., wobei jedoch bei der letzteren dieselbe viel mächtiger entwickelt ist.

Die Hoden sind zahlreich (ca. 150—200) und haben einen Durchmesser von 0,08—0,1 mm; sie befinden sich nicht nur hinten, sondern auch an den Seiten und vor den weiblichen Genitaldrüsen, und zwar lassen sie nur den vordersten Teil der Proglottide frei, wo sich später das Paruterinorgan entwickelt. Der relativ nicht große Cirrusbeutel ist 0,24—0,28 mm lang und reicht nur bis zum ventralen Exkretionsgefäß; er mündet in die tiefe, trichterförmige Genitalkloake.

Ein dichtes Gewirr des Vas deferens ist von Prostatazellen umgeben.

Die weiblichen Genitaldrüsen liegen bei einigen Exemplaren ganz median (wie auch Clerc angibt); bei anderen dagegen, wie Fuhrmann beschreibt, sind sie „leicht poral verschoben, und zwar so, daß das antiporale Ende des Keimstockes die Mittellinie der Strobila berührt".

Der Keimstock ist von halbrunder Gestalt und gelappt, hinter ihm liegt etwas exzentrisch (antiporal) der hufeisenförmige Dotterstock.

Die stark muskulöse Vagina verläuft ziemlich gerade und mündet hinter der männlichen Oeffnung. Sie besitzt ein Receptaculum seminis, welches zwischen Keimstock und Dotterstock gelegen ist.

Der Uterus liegt ventral und bildet einen stark lappigen, mit Eiern gefüllten Sack, vor welchem sich das dichte Paruterinorgan befindet, das die ganze Breite des Markparenchyms einnimmt.

Das Paruterinorgan ist schon bei den jungen Gliedern als eine kernförmige Masse bemerkbar.

Bei keinem meiner Exemplare habe ich den Eintritt der Eier aus dem Uterus ins Paruterinorgan feststellen können; dieser Prozeß geht wahrscheinlich nur bei den abgelösten Gliedern vor sich.

Generated on 2019-09-15 15:14 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Die Oncosphären haben einen Durchmesser von 0,064 mm; die Embryonalhaken sind 0,028 mm lang.

Die Eier bei dieser Art sind, im Gegensatz zu denen der Chapmania tauricollis, nicht mit einer Parenchymkapsel umgeben.

B. Schistometra Cholodkowsky 1912.

Synonym: Otiditaenia F. Beddard 1912.

In seiner Arbeit (1912 russische, 1913 französische Ausgabe) gibt Prof. Cholodkowsky für diese neue Gattung folgende Diagnose:

„Le scolex est probablement inerme (tous le strobiles que j'ai à ma disposition sont privés du scolex); les anneaux sont courts et larges; les pores génitaux sont irrégulièrement alternants, mais la plupart se trouve d'un côté; les glandes de l'appareil féminin sont fortement rapprochées du bord poral et se trouvent immediatement en dedans du grand vaisseau excréteur. L'utérus a la forme d'un grand sac allongé transversalement et repoussé vers le bord postérieur de l'anneau par une masse compacte du parenchyme transformée en un organe parutérin qui occupe tout le milieu de l'anneau; ce n'est qu'au bord latéral de cet organe que l'utérus se prolonge un peu en avant et vers la face dorsale de l'anneau. L'utérus mûr se dissipe en capsules contenant un œuf chacune. Les testicules sont très nombreux et se rassemblent principalement dans la moitié postérieur de l'anneau." Wirt: Otis tarda.

Andererseits gibt Beddard (8, p. 220) folgende Diagnose seiner Gattung Otiditaenia, welche meiner Ueberzeugung nach mit Schistometra Cholodk. identisch ist:

„Scolex with wide but rather rudimentary rostellum armed with over a hundred minute hooks arranged in two rows. Suckers unarmed. Neck present, not long. Proglottids for the most part wider than long, only as wide or slightly wider than long at the end of the body. Genital pores irregularly alternating. Detached proglottids very swollen, almost spherical. Water vascular vessels two pairs, ventral much the larger, nearly or quite lateral to each other; transverse trunks also wide. Genital organs not mature very early in strobila. Testes numerous, at least 200 lying posteriorly in a thin vertical plate extending between water vascular vessels and even beyond them laterally, imbedded in interstitial tissue different from medullary parenchyma. No vesicula seminalis, sperm-duct with large coil; cirrus sac large, containing a looped part of sperm-duct, short cirrus, and an evaginable sac derived from cloaca genitalis. Ovaries and vitelline gland in front of testes. Uterus in front of ovaries, a narrow transverse sac with cavity partly divided by ingrowing trabeculae. Later uterus converted into several spherical sacs. Eggs thin-walled, surrounded by nutritive (?) cells." Hab. Eupodotis kori.

Bei der Vergleichung dieser beiden Diagnosen ist anfangs schwer anzunehmen, daß sie derselben Gattung angehören, die genaue Untersuchung meiner Exemplare aus Turkestan überzeugte mich jedoch davon, daß sie identisch sind.

Prof. Cholodkowsky hat bei seiner Diagnose seine Aufmerksamkeit auf folgende charakteristische Merkmale gerichtet: 1) die porale Lage der weiblichen Genitaldrüsen; 2) das Zerfallen des Uterus in Kapseln; 3) die Anwesenheit und die Lage der Paruterinorgane. Da Cholodkowsky leider keinen Scolex zu seiner Verfügung hatte, so konnte er

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:14 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

zu seiner generischen Diagnose ein wichtiges Merkmal, die Anwesenheit der konischen Anhänge an den Saugnäpfen, nicht hinzufügen. Mangels des Scolex hat Cholodkowsky noch einen Fehler begangen, indem er diesen Parasiten, statt zur Familie der Davaineidae (nach dem Typus der Haken gehört er dieser an), zur Familie der Dilepinidae rechnet.

Mit der Diagnose von Beddard verhält es sich anders. Dieser, welcher seine Arbeit mit 12 sehr guten Abbildungen versehen hat, gibt eine sehr weitläufige, leider aber ungenaue Beschreibung dieser Gattung. Die porale Lage der weiblichen Genitaldrüsen ist vom Verf. ganz unbemerkt geblieben; er sagt von ihr nur „the ovary and vitelline gland lie in front of the testes". Ferner ignoriert er vollständig die Anwesenheit der Paruterinorgane, welche jedoch auf den Abbildungen 26, 29 und 30 sehr deutlich bemerkbar sind. Von den Saugnäpfen sagt er folgendes: „The four suckers are, as is so often the case, extremely mobile, and can be protruded a long way from the head as cylindrical processes. In this case they look rather forwards than outwards. When retrated and in a normal condition the suckers look outwards and slightly upwards. When fully protruded the suckers give to the head of this worm an appearance very like that of the genus of Tetraphyllidea, Cylindrophorus".

Die konischen, muskulösen Anhänge der Saugnäpfe sind von ihm unbemerkt geblieben. Was die letzteren betrifft, so muß ich bemerken, daß sie sehr oft fast unsichtbar sind; sie können nur bei reichhaltigem Material festgestellt werden, und zwar wenn diese Anhänge nicht stark kontrahiert sind. Wenn sie in die Tiefe der Saugnäpfe eingezogen sind, können sie nur bei einer sehr sorgfältigen Untersuchung festgestellt werden, weil die Grenze der Muskulatur der Saugnäpfe und der Anhänge kaum bemerkbar ist.

Ich meinerseits schlage für Schistometra Cholodk. folgende Diagnose vor:

Große, stark muskulöse Cestoden, deren Scolex mit typischen Davainea-Haken bewaffnet ist; Saugnäpfe mit besonderen konischen, muskulösen Anhängen versehen; Genitalöffnungen unregelmäßig abwechselnd, doch zum größten Teil auf einer Seite liegend. Vas deferens und die meisten der zahlreichen Hoden am hinteren Rande der Proglotttis; weibliche Genitaldrüsen stark poral verschoben; der reife Uterus zerfällt in Kapseln, deren jede ein Ei enthält; in den reifen Gliedern befindet sich das Paruterinorgan, welches mit seinen lappigen Verzweigungen allmählich die Eier ergreift. Parasiten Otidiformes mit einziger Art Schistometra togata Cholodkowsky 1912.

3. Schistometra togata Cholodkowsky 1912.

Synonym: Otiditaenia eupodotidis Beddard 1912.

Literatur: Fuhrmann (1909 nur Scolex); Cholodkowsky (1912 russische, 1913 französische Ausgabe); Beddard (1912).

Wirt: Otis tarda; Eupodotis kori; Otis arabs.

Geographische Verbreitung: Europäisches Rußland (Cholodkowsky); Afrika (Fuhrmann und Beddard); Asien (Russisch-Turkestan) (Skrjabin).

Beschreibung der Art.

Die Länge der Strobila des größten Exemplares meiner Sammlung betrug 238 mm. Cholodkowsky gibt nur annähernd eine Länge von

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:14 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

300 mm an, da er keinen Scolex besaß. Die Maximalbreite beträgt 8 bis 11 mm und der dorso-ventrale Durchmesser 2—2,5 mm.

Die reifsten Proglottiden sind orangefarben an der Stelle, wo sich das entwickelte Paruterinorgan befindet, und etwas schmäler als die halbreifen. Der vordere Teil jeder Proglottis ist von dem hinteren Rande jeder vorhergehenden wie mit einer Toga bedeckt, woher die Artbenennung Cholodkowskys stammt.

Scolex 0,6—0,75 mm lang und 0,65—0,85 mm breit.

Die Saugnäpfe haben einen Durchmesser von 0,28—0,35 mm und an jeder Seite 0,08 mm lange, konische, muskulöse Anhänge, welche Fuhrmann als erster (1909) beschrieben hat. Die Länge dieser Anhänge ist verschieden und hängt von ihrer Kontrahierung ab.

Das polsterförmige Rostellum hat einen Durchmesser von 0,21 bis 0,3 mm und ist mit einer doppelten Krone von 400—500 typischen Davainea-Haken bewaffnet, welche 0,01 mm lang sind. Nach diesem Merkmal muß diese Art zur Familie der Davaineidae gehören; die Anwesenheit der Paruterinorgane jedoch weist ihr einen Platz an in der Subfamilie der Idiogeninae Fuhrm. neben der Gattung Chapmania Mont.

Die Muskulatur weist einen ähnlichen Bau auf wie die der Chapmania tapika Clerc, nur ist sie mächtiger und jedes Muskelbündel stärker entwickelt.

Das Exkretionssystem besteht aus zwei dorsalen und zwei ventralen Gefäßen, von denen die letzteren eine Breite von 0,15—0,2 mm erreichen. Die ventralen Wassergefäßstämme sind miteinander durch ein Quergefäß verbunden, das 0,1—0,2 mm breit ist.

Wie die Abbildung zeigt, sieht man bei dieser Art auf den Ventralgefäßen einen deutlichen Klappenapparat am Hinterende jeder Proglottis, der den Rückfluß der Exkretionsflüssigkeit verhindert.

Der Hals ist sehr kurz oder fehlt vollständig.

Die Genitalöffnungen sind unregelmäßig abwechselnd, ihr größter Teil aber liegt einseitig, wie Cholodkowsky richtig bemerkt.

Die rund-ovalen Hoden, im Durchmesser von 0,04—0,048 mm, liegen, wie man am Flächenschnitt sieht, meistenteils in einer Reihe auf dem hinteren Rande der Proglottis in einer Zahl von 22—30; am Sagittalschnitt sieht man, nach Beddard, 6—7 Hodenreihen, so daß die Anzahl der Hoden in jeder Proglottis 150—200 beträgt. Das Vas deferens, von großen Prostatazellen umhüllt, liegt, wie die Hoden am hinteren Rande der Proglottis, neben dem großen Exkretionskanal. Diese Lage ist für unsere Art sehr charakteristisch.

Der Cirrusbeutel reicht nur bis zum Exkretionsgefäß und ist 0,6 mm lang und 0,2—0,25 mm breit.

Der Keimstock ist sehr klein, zweiflügelig, stark poral verschoben und liegt genau neben dem dorsalen Wassergefäß, etwas vor dem Hoden. In der Mitte zwischen beiden Keimstockflügeln liegt der kleine, runde Dotterstock.

Der junge Uterus ist sackförmig und nimmt die ganze Breite der Proglottis, zwischen den Exkretionskanälen, vor den Hoden ein. Vor dem Uterus entwickelt sich ziemlich früh das Paruterinorgan, welches allmählich den Uterus an den hinteren Rand der Proglottis drängt.

Der reife Uterus zerfällt in Kapseln, deren jede nur 1 Ei enthält. Wie die Abbildung zeigt, kann man den Uebergang der Eier ins Paruterinorgan sehr deutlich sehen; das letztere Organ umgreift die Eier mit seinen lappigen Parenchymverzweigungen.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:14 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Durch dieses letztere Merkmal unterscheidet sich die Gattung Schistometra von Chapmania, bei welcher dieser Prozeß nur in den abgelösten Gliedern vor sich geht. Von den beiden Gattungen Chapmania steht unser Parasit der Chapmania tauricollis am nächsten, bei welcher auch jedes einzelne Ei von Kapseln umhüllt ist.

Die Eier haben einen Durchmesser von 0,05 mm.

Als diese Arbeit beendet war, machte mich Prof. Fuhrmann darauf aufmerksam, daß Bloch 1782 in seiner Arbeit die Beschreibung eines großen Parasiten von Otis tarda unter dem Namen **Taenia conoideis** gibt, mit welchem Schistometra togata Cholodk. identisch scheint.

Bloch sagt von seiner Taenia conoideis folgendes: „Derjenige ist nebst fünf anderen schmäleren in der Trappe einheimisch gewesen. Dieser Wurm hatte eine schöne orange Farbe, welch aber wahrscheinlich von einer zufälligen Ursache, als der Nahrung, oder Galle herrührte, denn die übrigen hatten sie nur am Schwanzende."

Die Art Schistometra togata Cholodk. 1912 muß nach den Prioritätsregeln also in Schistometra conoideis Bloch 1782 umgetauft werden.

Tabellarische Artenübersicht der Gattungen Chapmania Mont. und Schistometra Cholodk.

Name	Chapm. tauricollis	Chapm. tapika	Schistometra coroideis
Untersucher	Chapman	Clerc	Bloch
Jahr	1876	1906	1782
Länge der Strobila	150—200	200	230
Breite der Strobila	4,3	3	8—11
Scolexlänge	0,52	0,5	0,6—0,75
Scolexbreite	0,58—0,68	0,4—0,6	0,65—0,85
Durchmesser der Saugnäpfe	0,24—0,28	0,2	0,28—0,35
Anhänge der Saugnäpfe	fehlen	fehlen	vorhanden
Durchmesser des Rostellums	0,25	0,34	0,21—0,3
Hakenkranzform	vierlappig	vierlappig	kreisrund
Zahl der Haken im Rostellum	ca. 1000	ca. 600	ca. 400—500
Hakenlänge	0,008	0,016	0,01—0,015
Zahl der Hoden	ca. 80	ca. 150—200	ca. 150—200
Durchmesser der Hoden	0,1	0,08—0,1	0,04—0,048
Cirrusbeutellänge	0,55	0,24—0,28	0,6
Weibliche Genitaldrüsen	median	median oder etwas poral	ganz poral
Eier (Durchmesser)	0,033	0,064	0,05
Uterus	zerfällt in Kapseln	bildet keine Kapseln	wie Chapm. tauricollis
Uebergang der Eier im Paruterinorgan	nur bei den abgelösten Gliedern	wie bei Chapm. tauricollis	in reifen, nicht abgelösten Gliedern
Wirt	Rhea americana	Otis tetrax	Otis tarda; Otis arabs; Eupodotis kori
Verbreitung	Südamerika	Europa, Afrika, Asien (Russ.-Turkestan)	Europa, Afrika, Asien (Russ.-Turkestan)

Die Maße sind in Millimetern angegeben.

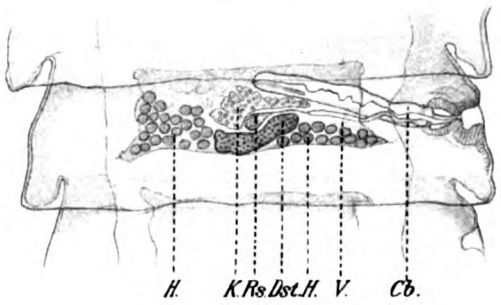
Generated on 2019-09-15 15:14 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

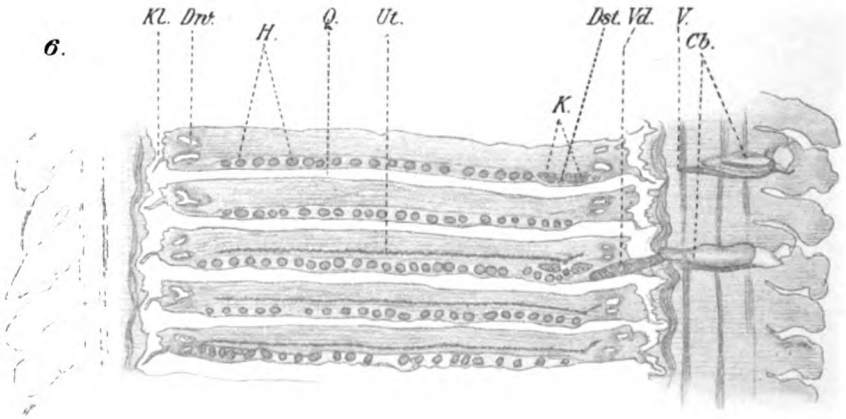
Generated on 2019-09-15 15:14 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Digitized by Google

Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN







Verlag von Gustav Fischer in Jena. Lith. Anst. v. A. Giltsch, Jena.

Digitized by Google

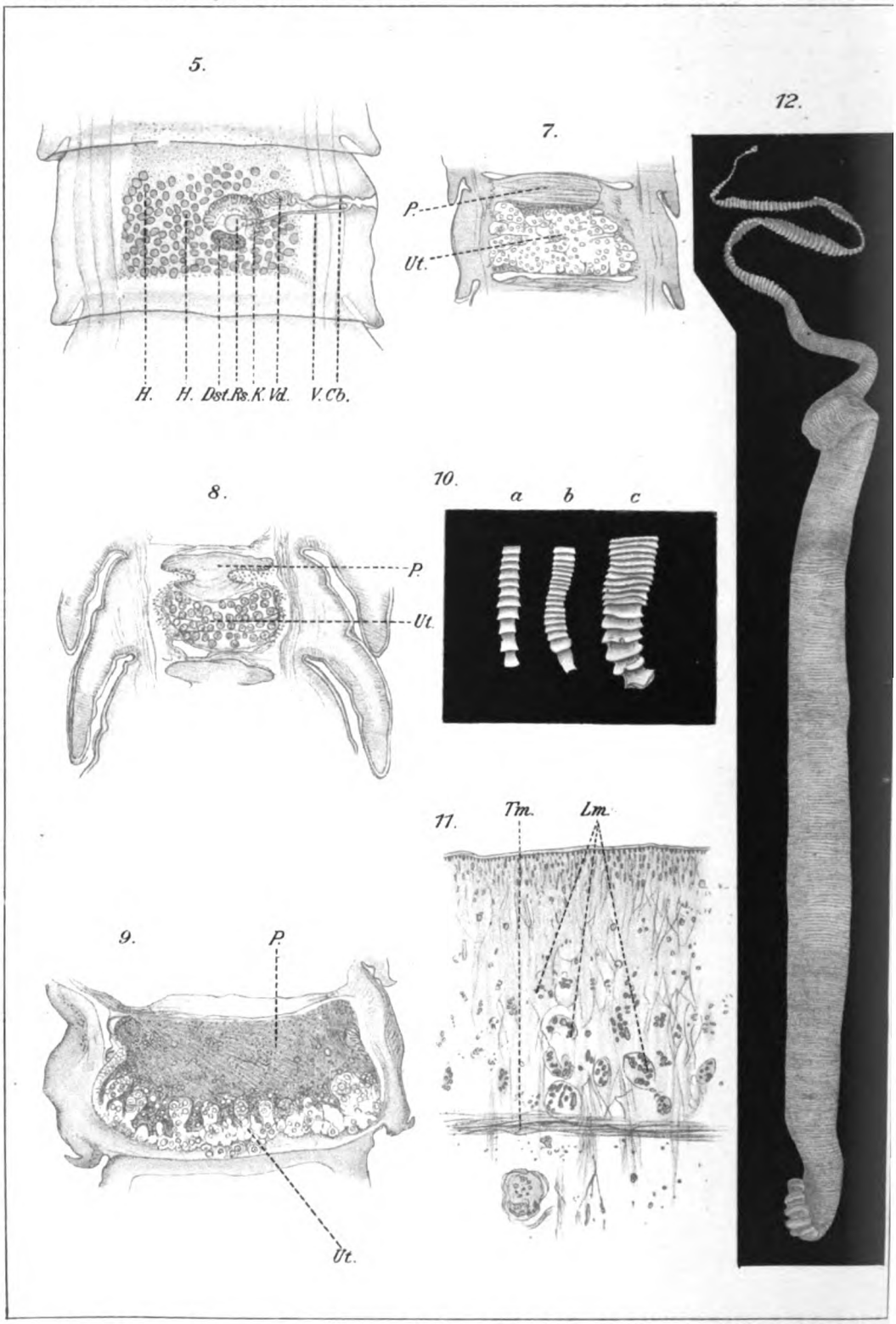
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-15 15:14 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Generated on 2019-09-15 15:17 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Digitized by Google

Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN



Verlag von Gustav Fischer in Jena.

Lith. Anst. v. A. Giltsch, Jena

Digitized by Google

Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-15 15:17 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Literatur.

1) Fuhrmann, Die Cestoden der Vögel. (Zool. Jahrb. Suppl. 10. 1908. H. 1.)
2) —, Die Cestoden der Vögel des weißen Nils. (Results of the Swedish Zoolog. Expedit. to Egypt and the White Nile 1901 under the Direction of L. Sägerskiöld. 1909.)
3) —, Beitrag zur Kenntnis der Vogeltänien. II. (Rev. suisse de Zool. T. 4. 1896.)
4) Clerc, Notes sur les Cestodes d'oiseaux de l'Oural. I et II. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 42. 1906.)
5) Chapman, Description of a new Taenia from Rhea americana. (Proc. Acad. nat. Sc. Philadelphia. 1876).
6) Monticelli, Intorno ad alcuni elminti del Museo zoologico delle R. Università di Palermo. (Naturalista Sicil. Ann. 12. 1893.)
7) Cholodkowsky, Objasnitelni katalog kollekzii parasitnich tscherwei zoologitscheskago kabineta Imperat. Voenno-Medicinskoi Akademii. I. Cyclophillidea. St. Petersburg 1912. [Russisch.]
8) Beddard, Contributions to the Anatomy and systematic Arrangement of the Cestoidea. III. On a new Genus of Tapeworms (Otiditaenia) from the Bastard (Eupodotis kori). (Proc. Zool. Soc. of London. 1912.)
9) Skrjabin, Vogelcestoden aus Russisch-Turkestan. (Zoolog. Jahrb. 1914.)
10) Zschokke, Ein Beitrag zur Kenntnis der Vogeltänien. (Centralbl. f. Bakt. Bd. 3. 1888.)
11) —, Davainea contorta n. sp. (Ibid. Bd. 17. 1895.)
12) Cholodkowsky, N., Cestodes nouveaux ou peu connus. Sér. II. (l'Annuaire du Musée Zool. de l'Acad. Imper. des Scienc. de St. Pétersbourg. T. 18. 1913.) [Französ.]
13) Bloch, Abhandlung von der Erzeugung der Eingeweidewürmer und den Mitteln wider dieselben. 10 Taf. Berlin 1782.
14) Skrjabin, Beitrag zur Kenntnis der Vogelcestoden. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 74. 1914.)

Erklärung der Abbildungen.

Fig. 1. Scolex von Chapmania tauricollis Chapm. von Rhea americana.
Fig. 2. Scolex von Chapmania tapika Clerc von Otis tetrax.
Fig. 3. Scolex von Schistometra togata Cholodk. von Otis tarda.
Fig. 4. Proglottis von Chapmania tauricollis Chapm. Totalpräparat.
Fig. 5. Proglottis von Chapmania tapika Clerc. Totalpräparat.
Fig. 6. Flächenschnitt durch mehrere Proglottiden von Schistometra togata Cholodk.
Fig. 7. Flächenschnitt durch eine Proglottis von Chapmania tapica Clerc mit Paruterinorgan und Uterus.
Fig. 8. Sagittalschnitt durch eine Proglottis von Chapmania tauricollis Chapm. mit Paruterinorgan und Uterus.
Fig. 9. Flächenschnitt durch eine reife Proglottis von Schistometra togata Cholodk. mit Eintreten der Oncosphären in das Paruterinorgan.
Fig. 10. Stück Strobila mit reifen Proglottiden: a) von Chapmania tauricollis Chapm., b) von Chapmania tapika Clerc und c) Schistometra togata Cholodk., natürliche Größe.
Fig. 11. Teil eines Querschnittes von Chapmania tapika Clerc mit Muskulatur.
Fig. 12. Schistometra togata Cholodk. Photographie; natürliche Größe.

Cb Cirrusbeutel; *Dst* Dotterstock; *Dw* Dorsales Wassergefäß; *H* Hoden; *K* Keimstock; *Kl* Klappenapparat; *Q* Quergefäß des Exkretionssystems; *Lm* Längsmuskulatur; *P* Paruterinorgan; *Rs* Receptaculum seminis; *Tm* Transversalmuskulatur; *Ut* Uterus; *V* Vagina; *Vd* Vas deferens.

Generated on 2019-09-15 15:17 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Nachdruck verboten.

Ueber die proteolytische Aktivität von Streptokokken-, Staphylokokken- und Coli-Kulturen.

[Aus dem Chemisch-biologischen Laboratorium der IV. Abteilung des St. Rochus-Spitales der Haupt- und Residenzstadt Budapest. (Oberarzt: Prof. Stephan von Tóth).]

Von **Eugen Rosenthal** und **Joseph August Patai.**

Mit 1 Textkurve.

Die proteolytische Aktivität von Mikroorganismen beschäftigte die Forscher, man könnte sagen, von allem Anfang der bakteriologischen Aera an. Zunächst wurde qualitativ festgestellt, daß verschiedene Kleinwesen erstarrte Leimgallerte oder koaguliertes Eiweiß lösen, und später kam es dann zur Ausarbeitung von Methoden, welche die quantitative Beobachtung dieser Wirkung gestatteten. — Von diesen möchten wir die Gelatinemethode Fermis erwähnen, welche indessen, ebenso wie die übrigen quantitativen Methoden, welche auf der durch die Proteolyse verursachten Verflüssigung der Gelatine beruhen, den gemeinsamen Nachteil hat, daß die Mikroorganismen dabei nur bei Zimmertemperatur gezüchtet werden können. Daß zwischen dem Wachstum und den biologischen Funktionen von Kleinwesen bei verschiedenen Temperaturen ein bedeutender Unterschied besteht, ist allgemein bekannt. Es wird wohl nicht nötig sein, darauf näher einzugehen, daß die bei 20° C entfaltete proteolytische Aktivität außer wegen des vorerwähnten Umstandes auch deshalb nicht der eigentlichen eiweißlösenden Wirkung des betreffenden Mikroorganismus entspricht, weil das Temperaturoptimum der Tryptasen — vom Papain abgesehen — um 37° C und nicht um 20° C liegt. —

Als eine weitere Methode müssen wir der Milchagarmethode Eijkmans gedenken; dieselbe läßt aber die Menge des wirksamen Fermentes nur annäherungsweise schätzen; eine genaue Bestimmung kann durch die Methode nicht erzielt werden.

Außer Gelatine und Kasein wurde auch erstarrtes Blutserum, Fibrin, Eiereiweiß zum Studium von proteolytischen Bakterienfermenten empfohlen, ohne indessen eine weitere Verbreitung gefunden zu haben.

Für das Studium der proteolytischen Fermente im allgemeinen war die Einführung von polarimetrischen Messungen von der größten Bedeutung; der Verlauf der Proteolyse wurde durch diese Methode zuerst von Siegfried, Lawrow, Gamgee und Croft Hill, sowie Gamgee und Jones verfolgt; nachher kamen die umfangreichen Untersuchungen von Abderhalden und seinen Mitarbeitern; speziell zur Untersuchung von proteolytischen Bakterienfermenten benutzte Weichardt die polarimetrische Methode. Dieselbe bietet zwar den Vorteil, daß sie eine fortlaufende Beobachtung der Spaltung ermöglicht, dabei haftet an ihr indessen eine Reihe von Nachteilen, welche zweifellos dazu beitragen, daß sich die Methode beim Studium von Bakterienfermenten nicht einbürgert. — Es lassen sich zunächst nur Stoffwechselvorgänge solcher Kleinwesen durch die optische Methode verfolgen, welche ohne Trübung des Nährmediums wachsen; es ist aber wohl bekannt, daß die überwiegende Mehrzahl der Mikroorganismen dieser Forderung nicht

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:17 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

entspricht. Ferner ist die Substratmenge, welche in einem Polarisationsrohr angesetzt wird, relativ gering, das Wachstum kommt teilweise aus diesem Grunde, andererseits durch Säurebildung und vielleicht auch durch Wachstumshemmung durch Eiweißspaltungsprodukte (Weichardt) bald zum Stillstand, so daß ein weiteres Studium der zu untersuchenden Wirkung nicht möglich ist. — Da nun sehr zahlreiche Mikroorganismen eine Trübung des Nährmediums bewirken, ist die Untersuchung der eiweißlösenden Fähigkeit bei diesen nur in Gestalt von Preßsäften oder Filtraten möglich. — Daß diese speziell in bezug auf die proteolytischen Fermente ganz unzuverläßliche Resultate liefern, ist bekannt, und somit scheint der optischen Methode auf diesem Gebiet keine besondere Zukunft bestimmt zu sein.

Die Unzulänglichkeit dieser Methode veranlaßte uns, eine weitere Methode zum Studium der proteolytischen Bakterienfermente einzuführen, welche, auf einer exakten chemischen Basis aufgebaut, sehr genaue Resultate liefert, und welche sich in anderen Gebieten, wo proteolytische Fermentwirkungen untersucht wurden, sehr gut bewährte. — Es war dies die Formolmethode S. P. L. Sörensens, welcher wir uns bei unseren Untersuchungen bedienten. Dieselbe beruht darauf, daß eine Eiweißspaltung im allgemeinen als eine mit Bildung von Carboxyl- und Aminogruppen einhergehende Hydrolyse zu betrachten ist; als Maß der Spaltung kann somit die Menge der gebildeten Carboxyl- und Aminogruppen betrachtet werden. Versetzt man nun ein Gemisch dieser Körper mit Formaldehyd, so gehen die Aminogruppen in Methylenverbindungen über, und es ist nun möglich, durch Bestimmung der Carboxylgruppen vor und nach der Proteolyse den Grad der Spaltung festzustellen. — Die Bestimmung der Carboxylgruppen erfolgt durch Titration mit $n/_5$ Barytlösung; die Zahl der verbrauchten Kubikzentimeter dieser Lösung, multipliziert mit 2,8, gibt in Milligramm den Aminosäurenstickstoff.

Die von uns verwendete Versuchsanordnung war folgende: Es wurde zunächst eine größere Menge von alkalischer Nährbouillon hergestellt, um bei allen folgenden Versuchen die aus der Verschiedenheit der Nährmedien herrührenden Unterschiede auszuschalten. Vor Beginn der Versuche wurde der Aminosäuregehalt der Bouillon mit Hilfe der oben erwähnten Formoltitrationsmethode Sörensens bestimmt; hierbei war natürlich auch der Ammoniakgehalt des sterilen Nährbodens zu berücksichtigen, da, wie bekannt, Ammoniak mit Formaldehyd ebenso reagiert wie Aminosäuren. — Es wurde deshalb stets gleichzeitig mit der Formoltitration eine Ammoniakbestimmung (nach Krüger-Reich-Schittenhelm) ausgeführt, und der hierbei erhaltene Wert des Ammoniakstickstoffes von jenem Stickstoff substrahiert, den die Formoltitration ergab; so kamen wir zu einem Stickstoffwert, der stets dem jeweiligen Aminosäuregehalt des Nährbodens entsprach.

Von der Bouillon wurden in geeignete Kolben je 800 ccm abgefüllt und mit Hilfe des Bakteriometers mit gleichen Mengen des zu untersuchenden Mikroorganismus geimpft.

Die Nährböden wurden zunächst mit Stämmen von Streptococcus brevis, Staphylococcus albus und B. coli geimpft, welche durch dauernde Züchtung auf künstlichen Nährböden eine sehr herabgesetzte Virulenz besaßen. Auf je 800 ccm Nährbouillon wurde je 0,5 ccm der 1:100 Verdünnung jener Aufschwemmung verimpft, welche im Bakterio-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:17 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

meter [1]) eine 5 mm hohe Säule lieferte. — Von den Nährmedien wurde dann täglich eine bestimmte Menge (60 ccm) unter Beachtung aller Kautelen der Sterilität abgefüllt und zur Ausführung der Aminosäuren- und Ammoniakbestimmungen verwendet.

Zur Formoltitration wurden je 20 ccm benutzt, indem diese Menge mit 10 ccm Formalin (40-proz. Formaldehydgehalt) versetzt wurde, nachdem es vorher mit $n/_5$ Baryt unter Zusatz von Phenolphtalein bis zur Annahme eines schwach-roten Farbentones neutralisiert war. Nach gründlichem Durchschütteln wird dann mit $n/_5$ Baryt bzw. $n/_5$ Salzsäure in der von Sörensen vorgeschriebenen Weise titriert. In gleicher Weise wurde eine Kontrolltitration mit destilliertem Wasser unter Zusatz von neutralisiertem Formalin und etwas Bismarckbraun mit $n/_5$ Baryt bzw. $n/_5$ Salzsäure ausgeführt und das Resultat derselben bei der Berechnung der Haupttitration in Betracht gezogen. Der entsprechende Stickstoffwert wird in Milligrammen erhalten, indem die Zahl der verbrauchten Kubikzentimeter $n/_5$ Barytlauge mit 2,8 multipliziert wird; das 5fache der erhaltenen Zahl gibt den Aminosäurengehalt von 100 ccm Kulturflüssigkeit an.

Die Ammoniakbestimmungen wurden, wie erwähnt, nach der Methode von Krüger-Reich-Schittenhelm ausgeführt; zur Ausführung derselben wurden 25 ccm der Kulturflüssigkeit in einen etwa einen Liter fassenden Rundkolben gebracht, dessen Ansatz in die vorgelegte $n/_{10}$ Schwefelsäure führte; durch die zweite Bohrung des Stöpsels konnte in den Rundkolben das Kochsalznatriumkarbonatgemisch zugesetzt werden, wonach die angeschlossene Wasserstrahlpumpe in Funktion gesetzt wurde. Nach Verlauf von etwa 40 Minuten wurde die Schwefelsäurevorlage mit $n/_{10}$ Natronlauge zurücktitriert; die Differenz zwischen der Menge der Vorlage und den verbrauchten Kubikzentimetern der Natronlauge, multipliziert mit 1,4, gibt den Ammoniakstickstoffgehalt für 25 ccm Kulturflüssigkeit an.

Der eigentliche Wert des Aminosäurenstickstoffes wird nun berechnet, indem man den für 100 ccm Kulturflüssigkeit erhaltenen Wert des Ammoniakstickstoffes vom ebenfalls auf 100 ccm Kulturflüssigkeit bezogenen Stickstoffwert der Formoltitration substrahiert.

Um diese Berechnung recht übersichtlich zu gestalten, möchten wir für dieselbe ein Beispiel anführen, zumal alle in den folgenden Tabellen niedergelegten Werte auf die gleiche Weise erhalten wurden. — Um den Nullpunkt für unsere Untersuchungen festzulegen, war es zunächst nötig, den Aminosäurengehalt der von uns gebrauchten sterilen Bouillon festzustellen. — Bei der Formoltitration wurden 3,75 ccm $n/_5$ Barytlauge verbraucht; diese Zahl mit 2,8 multipliziert, gibt den Stickstoffwert von 20 ccm der Bouillon an (10,5 mg), dessen 5-facher Wert (52,5 mg) den Gehalt von 100 ccm angibt. — Bei der Ammoniakbestimmung wurden 1,34 $n/_{10}$ Natronlauge verbraucht; diese Zahl multipliziert mit 1,4 und 4,0, gibt den Ammoniakstickstoffgehalt von 100 ccm Bouillon an (7,5 mg). — Wenn man nun diesen Wert vom Resultat der Formoltitration abzieht, so bekommt man den Aminosäurenstickstoffgehalt der von uns benutzten sterilen Bouillon, der somit 45,0 mg beträgt.

Die von uns ausgeführten Versuche hatten den Zweck, zunächst die proteolytische Aktivität als solche der Streptokokken-, Staphylokokken- und Coli-Kulturen mit Hilfe der soeben besprochenen Versuchsanordnung kennen zu lernen, ferner die Frage zu untersuchen, ob zwischen der proteolytischen Fähigkeit von avirulenten und virulenten Kulturen etwa ein Unterschied besteht. — Zu diesem Zweck wurden, wie bereits

1) Zu beziehen durch F. & M. Lautenschläger, Berlin; die Beschreibung des Instrumentes befindet sich bei E. Rosenthal: Berlin. klin. Wochenschr. 1913. No. 38.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:17 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

an anderer Stelle hervorgehoben, nicht von klinisch leichten bzw. schweren Fällen herrührenden Mikroorganismen einfach als virulent bzw. avirulent bezeichnet und auf ihre eiweißlösende Fähigkeit untersucht, sondern nur Mikroorganismen, die durch Züchtung auf künstlichem Nährboden, bzw. durch Tierpassage in dem Zustand einer herabgesetzten bzw. erhöhten Virulenz sich befanden.

Die Kontrolle der Virulenz erfolgte durch den Tierversuch, und zwar bei den Streptokokken mit Mäusen, bei den Staphylokokken mit Kaninchen und bei dem B. coli mit Meerschweinchen.

Der von uns ausgeführte erste Versuch wurde mit einem Streptokokkenstamm gemacht, der vom Blute einer an Sepsis puerperalis erkrankten Frau gezüchtet wurde; der Keim zeigte auf der Schottmüllerschen Blutagarplatte eine sehr ausgesprochene Hämolyse und wurde dann durch $2^1/_2$ Monate auf Serumagar und Bouillon gezüchtet. Die Virulenz der ursprünglichen Kultur wurde im Tierversuch nicht festgestellt; nach der $2^1/_2$-monatigen Züchtung auf künstlichem Nährboden tötete in einer Menge von 1 ccm der 100-fachen Verdünnung jener Menge, welche eine 5 mm hohe Säule im Bakteriometer lieferte, Mäuse von 16—19 g in 4 Tagen. — Durch wiederholte Tierpassage konnte die Virulenz soweit gesteigert werden, daß 1 ccm der 100-fachen Verdünnung binnen 24 Stunden eine Maus vom gleichen Gewicht tötete. — Der avirulente, sowie der virulente Stamm wurden den weiter oben besprochenen Mengenverhältnissen entsprechend auf Bouillon geimpft, und die Menge der abgespaltenen Aminosäuren bestimmt. Die hierbei erhaltenen Resultate sind in Rubrik S und S' der Tabelle I zusammengestellt. — Ein zweiter Streptokokkenstamm rührte von der Tonsille eines gesunden Mannes her; der Stamm wurde nach einer 6-wöchigen Züchtung auf künstlichem Nährboden in bezug auf Mäusevirulenz untersucht; es ergab sich, daß 1 ccm der Verdünnung 1 : 50 binnen 4 Tagen eine Maus tötete; wiederholte Tierpassage erhöhte die Virulenz des Stammes, bis schließlich 1 ccm der Verdünnung 1 : 300 binnen 2 Tagen Mäuse zu töten imstande war. Die mit diesem Stamm erhaltenen Resultate sind in Rubrik T und T' der Tabelle I zu finden. — Ein dritter Streptokokkenstamm schließlich rührt aus der Vagina einer Frau her, bei welcher ein Abortus eintrat; der Stamm wurde 6 Wochen hindurch auf Bouillon und Serumagar gezüchtet, und wies nachher eine Mäusevirulenz auf, daß die Verdünnung 1 : 100 in 5 Tagen zum Tode führte. — Auch diesen Stamm unterwarfen wir einer wiederholten Tierpassage, wodurch

Tabelle I.

Versuchstag	Avirulente Kulturen			Virulente Kulturen		
	S	T	V	S'	T'	V'
1	0,0811	0,0662	0,0686	0,0931	0,0886	0,0814
2	0,0834	0,0676	0,0713	—	0,0891	—
3	0,0831	—	0,0702	0,0946	—	0,0848
4	—	0,0694	—	—	0,0931	0,0862
5	0,0849	0,0735	0,0761	0,0961	0,0942	—
6	0,0832	—	0,0796	0,0958	—	0,0923
7	—	0,0726	—	—	0,0940	0,0936
8	—	—	—	0,0962	0,0956	—
9	0,0840	0,0748	0,0784	0,0960	—	0,0930
10	0,0848	0,0754	—	—	0,0951	0,0941

Die Zahlen dieser wie die der folgenden Tabellen zeigen den Aminosäurenstickstoffgehalt von 100 ccm Kulturflüssigkeit in Grammen an.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:17 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

1 ccm der 300-fachen Verdünnung Mäuse in 3 Tagen tötete; die Aminosäurenstickstoffwerte, welche diesem Stamm entsprechen, stehen in Rubrik V und V′ der vorstehenden Tabelle.

In einer zweiten Versuchsreihe wurde in ähnlicher Weise das proteolytische Vermögen von 2 Staphylokokkenstämmen studiert. Der eine Stamm — Staphylococcus aureus — rührte von einer Furunculosis her, und wuchs auf den gebräuchlichen Nährböden üppig. Nach fortgesetzter Züchtung auf künstlichem Nährboden durch 4 Wochen wurde 1 ccm der 100-fachen Verdünnung Kaninchen intravenös injiziert; das erste Kaninchen ging in 9 Tagen ein, das letzte in 2 Tagen; eine höhere Virulenz ließ sich auf diesem Wege nicht erzielen, im Gegenteil, nach wiederholten Impfungen schien die Virulenz für Kaninchen sogar abzunehmen, da dann Kaninchen in 2 Tagen nicht immer sicher getötet wurden. (Dieser Stamm ist identisch mit jenem, dessen Vermehrungsgeschwindigkeit ebenfalls untersucht wurde; vgl. Arch. f. Hyg. Bd. 81. p. 88.) Von diesem Stamme wurde den weiter oben besprochenen Mengenverhältnissen entsprechend auf Bouillon verimpft und die Aminosäurenproduktion festgestellt; die betreffenden Zahlen finden sich in Rubrik F und F′ der Tabelle II.

Ein zweiter Staphylokokkenstamm wuchs uns anläßlich einer bakteriologischen Blutuntersuchung aus der Haut des Patienten; es war ein Stamm von Staphylococcus pyogenes albus, dessen Virulenz so gering war, daß eine Reihe von ausgewachsenen Kaninchen selbst durch die intravenöse Injektion einer unverdünnten Aufschwemmung am Leben blieb. Es wurden später junge, nicht ausgewachsene Kaninchen geimpft, welche anfangs nach der Injektion der unverdünnten Aufschwemmung in 7 Tagen, und schließlich in der 150-fachen Verdünnung in 5 Tagen Kaninchen tötete. — Die Aminosäurenwerte, welche diesem Stamm entsprechen, stehen in der folgenden Tabelle II in Rubrik H und H′:

Tabelle II.

Versuchstag	Avirulente Kulturen		Virulente Kulturen	
	F	H	F′	H′
1	0,0714	0,0664	0,0916	0,0724
2	—	0,0682	0,0924	—
3	0,0742	0,0731	—	0,0763
4	—	—	0,0931	0,0772
5	0,0738	0,0742	0,0946	—
6	0,0742	0,0736	—	0,0794
7	—	—	0,0961	0,0810
8	0,0759	—	—	—
9	—	0,0749	0,0958	0,0826
10	0,0761	—	—	0,0815

Schließlich untersuchten wir 3 Stämme des B. coli. Der eine Stamm rührt von einer tödlichen Coli-Peritonitis her, und wurde durch etwa 8 Monate auf künstlichem Nährboden gezüchtet. Die Virulenz für Meerschweinchen wurde zunächst bei der 100-fachen Verdünnung bestimmt: Tiere von etwa 200 g wurden am Anfang in 5 Tagen getötet, schließlich war 1 ccm der 700-fachen Verdünnung (stets intraperitoneal) in 2 Tagen tödlich. Quantitative Verimpfung auf Bouillon; die Resultate der Aminosäurebestimmungen sind in Rubrik P und P′ der Tabelle III verzeichnet. Ein zweiter Coli-Stamm wuchs aus den Faeces eines Typhusverdächtigen; uns kam der Stamm zu, nachdem er 6 Wochen auf Bouillon gezüchtet

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:17 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

worden war; er tötete Meerschweinchen von etwa 200 g anfangs in der Verdünnung von 1:100 in 4 Tagen, nach wiederholter Tierpassage in 2 Tagen in der Verdünnung von 1:400. Die auf diesen Stamm bezüglichen Aminosäurewerte finden sich in Rubrik F und F' der Tabelle III. Ein dritter, von uns untersuchter Stamm des B. coli stammte aus den Faeces eines gesunden Mannes und wurde nach einer 2 Monate lang dauernden Züchtung auf Bouillon auf seine Virulenz geprüft. Die Verdünnung von 1:50 tötete anfangs in 5 Tagen Meerschweinchen von 200 g Gewicht, und schließlich konnte mit 1 ccm der 300-fachen Verdünnung der Tod der gleichgroßen Tiere in 3 Tagen erzielt werden. Die den Aminosäuremengen dieses Stammes entsprechenden Stickstoffwerte sind in der Rubrik G und G' der Tabelle III zusammengefaßt:

Tabelle III.

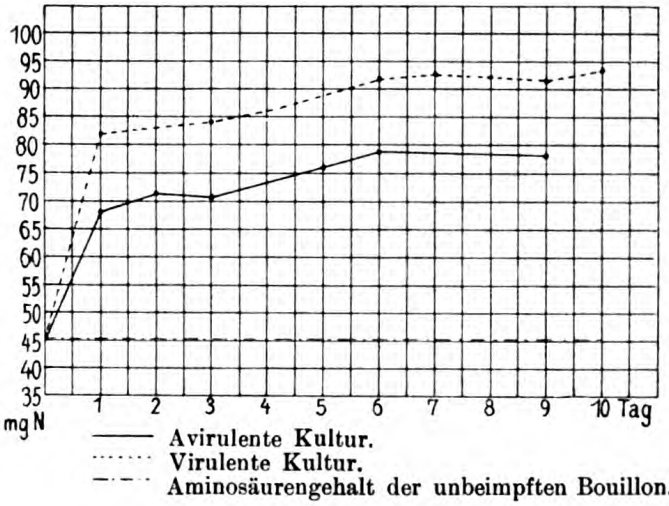
Versuchstag	Avirulente Kultur			Virulente Kultur		
	P	F	G	P'	F'	G'
1.	0,0586	0,0546	0,0610	0,0631	0,0596	0,0709
2.	0,0589	—	0,0624	0,0648	—	—
3.	—	0,0552	0,0619	—	0,0614	0,0713
4.	0,0594	0,0564	—	0,0641	—	0,0724
5.	—	—	0,0628	0,0653	0,0607	—
6.	0,0613	0,0581	0,0631	—	0,0619	0,0713
7.	0,0609	—	—	0,0674	—	0,0738
8.	—	0,0593	—	—	0,0623	—
9.	0,0631	0,0601	0,0640	0,0692	—	0,0742
10.	—	0,0613	—	0,0703	0,0646	0,0748

Aus den vorstehenden Versuchsresultaten geht zunächst hervor, daß die Aminosäureproduktion und somit auch die proteolytische Aktivität der von uns untersuchten Mikroorganismen nach demselben Typus verläuft: Innerhalb der ersten 24 Stunden wird gewöhnlich ein Wert erreicht, der für den weiteren Verlauf der Aminosäureabspaltung maßgebend zu sein scheint, und der in den folgenden Tagen weitere Schwankungen aufweist, und zwar gewöhnlich in dem Sinne, daß bis zum 10. Tage eine mehr oder weniger ausgesprochene weitere Steigerung der Aminosäureproduktion auftritt. In bezug auf die absoluten Mengen der abgespaltenen Aminosäuren ist zwischen den untersuchten Streptokokken und Staphylokokken kein Unterschied vorhanden, während die beim B. coli erhaltenen Werte auffallend niedriger liegen, und auch nicht das Minimum der Streptokokken- und Staphylokokkenwerte erreichen, ein Umstand, der vielleicht damit zusammenhängt, daß das B. coli zu den nichtverflüssigenden Mikroorganismen gehört. Die folgende Kurve, welche mit den übrigen Versuchen im Wesen übereinstimmt, zeigt den oben besprochenen Verlauf der Aminosäureabspaltung:

Aus derselben geht ferner hervor, daß bei der virulenten Kultur der Wert des Aminosäurestickstoffes höher als bei der avirulenten Kultur ist; betrachtet man die in den obigen 3 Tabellen zusammengefaßten Zahlen, so ist unschwer zu erkennen, daß dieser Unterschied zwischen der Aminosäureabspaltung der virulenten und avirulenten Kulturen bei allen von uns untersuchten Stämmen vorhanden ist. Welche Bedeutung dieser Tatsache bei der Beurteilung der Funktionen von Kleinwesen zukommt, soll in einem anderen Zusammenhange besprochen werden.

Generated on 2019-09-15 15:17 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Aminosäurenproduktion des Streptokokken.



Wie bei Besprechung der von uns gebrauchten Versuchsanordnung erwähnt wurde, führten wir im Laufe unserer Untersuchungen auch Ammoniakbestimmungen aus; es war unsere Absicht, auch die hierbei erhaltenen Werte kurvenmäßig darzustellen, um aus ihnen in bezug auf die Ammoniakproduktion der von uns untersuchten Mikroorganismen Schlüsse zu ziehen. Es zeigte sich indessen, daß man in den ersten Tagen relativ geringe, dann aber verhältnismäßig hohe Werte erhält. Die Ursache liegt darin, daß wir uns alkalischer Nährböden bedienten, und daß somit der Ammoniakgehalt der Kulturflüssigkeit so lange unter dem tatsächlich produzierten Werte steht, bis die Reaktion des Nährmediums nicht sauer wird; dies trat auch in unseren Versuchen nach einigen Tagen ein (diesbezügliche genauere Untersuchungen sind im Gange), und erst von diesem Zeitpunkt an könnte man die Ammoniakwerte als solche betrachten, die der Ammoniakproduktion des betreffenden Mikroorganismus entsprechen. Da uns aber genaue Anhaltspunkte über den Zeitpunkt der Reaktionsänderung einerseits, andererseits durch die Alkalinität des Nährbodens bedingte nur ungenaue Werte der ersten Tage zur Verfügung standen, sahen wir davon ab, die diesbezüglichen Resultate näher zu besprechen.

Zusammenfassung.

1) Die Kurve der Aminosäureabspaltung durch Streptokokken, Staphylokokken und B. coli erreicht innerhalb der ersten 24 Stunden einen relativ hohen Wert, der zwischen 54,6 und 84,8 mg Aminosäurestickstoff pro 100 ccm Nährmedium schwankt; in den folgenden Tagen tritt gewöhnlich eine nicht bedeutende weitere Steigerung auf.

2) In bezug auf die absoluten Aminosäurestickstoffwerte besteht zwischen Staphylokokken und Streptokokken kein Unterschied, während beim B. coli gegenüber den beiden anderen untersuchten Mikroorganismen erhaltenen relativ geringe Werte erzielt wurden.

3) Bei der Aminosäureabspaltung der von uns untersuchten Stämme besteht zwischen den avirulenten und virulenten Mikroorganismen insofern

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:17 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

ein Unterschied, als von den letzteren mehr Aminosäure als von den avirulenten abgespalten wurde.

Literatur.

Fermi, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 7. — Arch. f. Hyg. Bd. 10 u. 14.
Eijkmann, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 29 u. 35.
Siegfried, Zeitschr. f. physiol. Chemie. Bd. 35.
Lawrow, Zeitschr. f. physiol. Chemie. Bd. 43.
Gamgee u. Croft Hill, Beitr. z. chem. Physiol. u. Pathol. Bd. 4.
— u. Jones, Beitr. z. chem. Physiol. u. Pathol. Bd. 4.
Abderhalden u. Koelker, Zeitschr. f. physiol. Chemie. Bd. 51.
Weichardt, W., Arch. f. Hyg. Bd. 73.
Sørensen, S. P. L., Biochem. Zeitschr. Bd. 7. — Compt. rend. du Laborat. Carlsberg. 1907.
Schittenhelm, Zeitschr. f. physiol. Chemie. Bd. 39.

Nachdruck verboten.

Ueber die Wirkung einiger Anilinfarbstoffe auf Bakterien. Nebst einem Beitrag über die Farbstofffestigkeit der Bakterien.

[Aus dem Bakteriologischen Institut zu Smolensk.]

Von **M. Isabolinsky** und **L. Smoljan.**

Schon in den 80er Jahren des vorigen Jahrhunderts lenkte R. Koch die Aufmerksamkeit auf den Umstand, daß viele organische Farbstoffe eine ganz bedeutende desinfizierende Kraft besitzen. In seinem Auftrage übernahm Behring, der im Jahre 1889 seine recht interessanten Versuche publizierte, die weitere Bearbeitung dieser Frage; aus seinen Untersuchungen ging hervor, daß Cyanin, Dahliablau und Safranin das Wachstum der Bakterien, hauptsächlich des B. anthracis, hemmen. Beim weiteren Studium der Farbstoffeigenschaften ist es Behring gelungen, die hoch interessante Erscheinung festzustellen, daß die Farbstoffe nicht, ähnlich den Metallsalzen, auf alle Bakterien bakterizid wirken, sondern daß sie diese bakterizide Wirkung spezifisch nur gegen eine bestimmte Bakterienart äußern. Diese Erscheinung gab Behring Veranlassung zu der Vermutung, daß diese Eigenschaft, nur den Infektionserreger anzugreifen, uns die Möglichkeit geben kann, diese Mittel ohne jeglichen Schaden für den menschlichen Organismus anzuwenden. Bekanntlich besitzen aber die starken Desinfektionsmittel diese Eigenschaft nicht; Pflanzen- und Tierprotoplasma werden durch Sublimat, Cyankali, sowie durch starke Säuren und Alkalien zerstört. Klinisch sind solche desinfizierende Mittel, die nur auf das schädliche Agens, ohne den Organismus anzugreifen, wirken, natürlich von größter Wichtigkeit.

Nach Behrings Mitteilungen veröffentlichte auch Stilling seine Beobachtungen über die Wirkung der Anilinfarben und hauptsächlich des Methylvioletts, das in der Praxis unter dem Namen Pyoctanin eingeführt war. Stilling stellte fest, daß die Verdünnung des Pyoctanins von 1:30 000 das Bakterienwachstum hemmt, die von 1:2000 und 1:5000 tötet dieselben ab. Die Tierversuche zeigten, daß die Farbstoffe ganz unschädlich sind und nur bei intraperitonealer Einführung größerer Dosen die Tiere zugrunde gehen. Als Ophthalmologe wandte Stilling das Methylviolett bei einigen Augenerkrankungen an, und überzeugte sich von der günstigen Wirkung des Farbstoffes. Die von Stilling veröffentlichten Resultate veranlaßten damals eine Reihe von Autoren, diese Beobachtungen nachzuprüfen. Petersen untersuchte die Wirkung des Pyoctanins bei Ulcus molle, und fand, daß unter der Pyoctaninwirkung die Ulzerationen sehr schnell heilen, wo das Jodoform wirkungslos blieb. Sehr günstige Resultate bekam er bei Anwendung von Pyoctanin bei Conjunctivitis, Keratitis und Iridocyclitis. Jedenfalls steht das Pyoctanin in seiner Heilwirkung der des Jodoforms keinesfalls nach. Fessler und Arsdale wandten das Methylviolett in der chirurgischen Praxis bei verschiedenen Wunden an, und bemerkten Aufhören der Absonderungen und rasche Heilung unter Anwendung einer 1-prom. Lösung des Farbstoffes. Bei einer

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:17 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Staphylokokkenaufschwemmung, die in 5—8 ccm Bouillon, welche eine Lösung des Farbstoffes von 1:10000 enthält, hineingebracht wurde, wurde das Wachstum der Bakterien gänzlich aufgehoben. Obwohl auch Garrè das Pyoctanin bei eitrigen Wunden und tuberkulösen Ulcera anwandte und keine schädliche Nebenwirkung auf den Organismus konstatieren konnte, fand er doch keinen Vorzug desselben gegenüber den gewöhnlichen Antisepticis. Die Versuche von Trose zeigen, daß Lösungen von Pyoctanin von 1:1000 nur das Wachstum hemmen, aber die Staphylokokken nicht abtöten. Diese Versuche waren aber nicht ganz exakt durchgeführt, und es ist deswegen sehr schwer, sich über die Wirkung des Farbstoffes auf die Staphylokokken ein richtiges Urteil zu bilden. Gegen die Begeisterung für das Pyoctanin sprach sich Liebreich aus, indem er darauf hinwies, daß auf Grund eines rein kasuistischen Materials man noch nicht über die Eigenschaften des Farbstoffes urteilen kann, sondern daß man alle Bestandteile einzeln studieren muß; dann wird sich vielleicht herausstellen, daß nur eine bestimmte Substanz die Heilwirkung besitzt, während die übrigen Bestandteile vielleicht gar schädlich sind. Bald aber ruhte diese Begeisterung für die Anilinfarbstoffe als Heilmittel eine verhältnismäßig lange Zeit. Selbstverständlich hob sich beim Auftreten der Chemotherapie als selbständigen Fachs das Interesse für die Anilinfarbstoffe und viele Forscher begannen von neuem, die Wirkung der Anilinfarbstoffe auf verschiedene Bakterien zu studieren.

Kriegler stellte sich die Aufgabe, die bakterizide Wirkung verschiedener Anilinfarben auf Bakterien nachzuprüfen. Auf Grund seiner zahlreichen Untersuchungen kommt er zu dem Schlusse, daß die Mehrzahl der Farbstoffe der Rosanilingruppe stärkere bakterizide Eigenschaften besitzt, als die Karbolsäure. Die Typhusbacillen erwiesen sich weniger widerstandsfähig gegen die Farbstoffe, als andere Bakterien. Er fand keinen großen Unterschied in der Art und Weise der bakteriziden Wirkung der verschiedenen Farbstoffe gegen die gleiche Bakterienart. In der Versammlung deutscher Ophthalmologen in Heidelberg im Jahre 1912 veröffentlichte Gebb die Resultate seiner experimentellen und klinischen Untersuchungen über die Wirkung der Anilinfarbstoffe bei diplobacillären Augenaffektionen. Die Untersuchungen zeigen, daß unter der Wirkung einiger Farbstoffe Wachstum und Gedeihen der Bakterien sowohl in vitro, wie auch in vivo im Bindehautsacke des Kaninchens zum Stillstand kommt. Auch die klinischen Versuche zeigen, daß unter der Wirkung des Farbstoffes die Augenaffektionen, die durch Diplobacillen hervorgerufen sind, sehr rasch heilen. Wie wir sehen, stimmen die Resultate der Untersuchungen von Gebb mit denjenigen, die von Stilling bereits im Jahre 1890 ausgeführt wurden, vollständig überein.

Auf demselben Ophthalmologenkongreß teilte Löhlein die Resultate seiner in Verbindung mit Römer ausgeführten Versuche über die bakteriziden Eigenschaften der organischen Farbstoffe mit. Diese Versuche wurden bei verschiedenen Augenerkrankungen, hauptsächlich bei den Gonokokkenaffektionen, angestellt. Es hat sich dabei erwiesen, daß die Anilinfarbstoffe bakterizide Eigenschaften gegenüber den Gonokokken besitzen, wenn sich auch verschiedene Gonokokkenstämme verschieden gegen dieselben verhalten. Beim Studium verschiedener Farbstoffe kommt er zu dem Schlusse, daß einige derselben große bakterizide Kraft für die Gonokokken besitzen, ohne aber auf andere Bakterien zu wirken, und umgekehrt. Daneben stellten die oben erwähnten Forscher fest, daß verschiedene Farbstoffe ihre bakterizide Wirkung gewissermaßen spezifisch nur auf bestimmte pathogene Mikroorganismen des Auges äußern. Dieser Umstand gibt ihrer Meinung nach uns Grund und Recht, an eine spezifische Therapie der Infektionskrankheiten des Auges denken zu können. Bekanntlich diente denn auch das Studium der Anilinfarbstoffeigenschaften in bezug auf die Mikroorganismen als Ausgangspunkt für den Aufbau der Lehre von der Chemotherapie; aus der Literatur ist die Anwendung von Methylenblau, Scharlachrot, Trypanrot, Trypanblau und einigen anderen Farbstoffen zu Heilzwecken bekannt, und in manchen Fällen sind ganz günstige Resultate erzielt worden. Die große Zahl immer neuer, rein pharmakologischer Präparate lenkt die Aufmerksamkeit immer auf sich zum Zwecke weiterer Untersuchungen. Auch den organischen Farbstoffen wird schon von vielen Autoren eine gewisse Heilwirkung zugeschrieben.

Im vorliegenden Artikel erlauben wir uns, unsere rein experimentellen Untersuchungen, die den Zweck hatten, die Wirkung einiger Anilinfarben auf Bakterien in vitro und in vivo feststellen, mitzuteilen. Bei unseren Forschungen begnügten wir uns mit folgenden Farbstoffen: Methylenblau, Gentianaviolett, Methylviolett 5 B (Grübler), Kristallviolett, Pyoctanin (Merck), Thionin, Malachitgrün, Fuchsin, Safranin und Eosin. Diese Farbstoffe prüften wir an folgenden Mikroorganismen: Staphylococcus pyogenes aureus, Pneumococcus, B. anthracis, B. typhi, B. coli, Vibrio cholerae asiaticae.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:17 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Zuerst wollen wir kurz die Technik unserer Versuchsanstellung angeben: 0,5 ccm vorbereiteter, verschiedener Farbstoffverdünnungen in destilliertem Wasser wurden einem Röhrchen mit 2 ccm Bouillon, das mit 2—3 Oesen einer frischen Agarkultur beimpft war, hinzugefügt. Das Gemenge der Bakterien mit dem Farbstoff wurde in den Brutschrank bei 37° C gestellt und nach 3, 6, 12 und 24 Stunden wurden aus den Röhrchen Kulturen auf Petri-Schalen mit Agar angelegt. Die auf diese Weise beimpften Petri-Schalen wurden bei 37° C bebrütet und nach 18—24 Stunden wurden die Kolonieen auf jeder Schale gezählt. Diese Zählung haben wir möglichst genau ausgeführt; wo sie aber unmöglich war, wegen zu zahlreicher Kolonieen, haben wir das Zeichen ∞ gemacht; das Fehlen von Wachstum wird durch — angedeutet. Gleichzeitig mit der Ueberimpfung wurden mikroskopische Präparate und hängende Tropfen angefertigt zum Zwecke des genauen Studiums der morphologischen und biologischen Veränderungen der Bakterien unter der Wirkung der Farbstoffe.

Tabelle 1.

Staphylococcus pyogenes aureus.

Farbstoff-verdünnung	Die Konzentration zur Bouillon	Methylenblau				Gentiana-violett				Methylviolett 5 B				Kristallviolett				Pyoctanin (Merck)			
		3	6	12	24	3	6	12	24	3	6	12	24	3	6	12	24	3	6	12	24
1:50	1:250	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
1:100	1:500	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
1:200	1:1000	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
1:500	1:2500	295	298	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
1:1000	1:5000	270	276	110	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
1:2000	1:10 000	282	172	140	142	14	18	16	20	5	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
1:5000	1:25 000	∞	∞	∞	488	∞	∞	∞	155	350	280	60	—	150	82	40	—	∞	∞	∞	395
1:10 000	1:50 000	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	103	∞	∞	180	18	∞	∞	∞	∞
1:20 000	1:100 000	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	92	∞	∞	∞	∞
		Thionin				Safranin				Malachitgrün				Fuchsin				Eosin			
1:50	1:250	520	404	315	228	42	5	—	—	—	—	—	—	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞
1:100	1:500	∞	∞	∞	319	∞	69	—	—	—	—	—	—	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞
1:200	1:1000	∞	∞	∞	∞	∞	∞	147	—	—	—	—	—	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞
1:500	1:2500	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	—	—	—	—	—	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞
1:1000	1:5000	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	510	—	—	—	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞
1:2000	1:10 000	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞
1:5000	1:25 000	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞
1:10 000	1:50 000	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞
1:20 000	1:100 000	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞

Bemerkung: Die Kontrollversuche ohne Farbstoffzusatz ergaben üppiges Wachstum auf den Agarplatten.

Aus der eben angeführten Tabelle ersehen wir, daß das Kristallviolett die stärksten bakteriziden Wirkungen auf den Staphylococcus besitzt. Nach 3-stündiger Wirkung auf den Staphylococcus beginnt das Wachstum erst bei einer Verdünnung von 1 : 25 000 [1]), nach 24-stündiger Wirkung aber erst bei einer Verdünnung von 1 : 50 000. Bezüglich seiner bakteriziden Wirkung steht dem Kristallviolett Methylviolett und Pyoctanin fast gleich. Etwas schwächer zeigte sich in unseren Ver-

1) Die Verdünnungen des Farbstoffes rechnen wir auf 2 ccm Bouillon; die Grundverdünnung ist 5mal stärker.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:17 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

suchen das Gentianaviolett, unter dessen Wirkung wir erst Wachstum erzielten bei einer Verdünnung des Farbstoffes von 1:10000; noch schwächer wirken Malachitgrün und Methylenblau, die erst nach 12 bis 24 Stunden den Staphylococcus bei einer Verdünnung von 1:2500 und 1:5000 abtöten. Eine sehr schwache Wirkung zeigt das Safranin, und zwar erst nach 12 Stunden. Fuchsin, Eosin und Thionin hemmen das Wachstum gar nicht.

Die Zeit spielt bei der Farbstoffwirkung ohne Zweifel in vielen Fällen eine große Rolle. Beim Methylenblau beginnt das Staphylokokkenwachstum erst nach 3—6 Stunden bei einer Verdünnung von 1:2500, nach 12 Stunden von 1:5000 und nach 24 Stunden bei 1:10000. Dasselbe beobachtet man beim Methylviolett, Kristallviolett und Malachitgrün.

Bei der mikroskopischen Untersuchung der Ausstrichpräparate, die aus Bouillonkulturen bereitet sind, kann man bei größeren Farbstoffverdünnungen einzelne Kokken konstatieren; je schwächer die Verdünnung, desto mehr Kokken werden gefunden.

Aus dem oben Gesagten geht klar hervor, daß die Mehrzahl der von uns untersuchten Anilinfarbstoffe, mit Ausnahme der sauren (Fuchsin, Eosin), eine mehr oder weniger starke bakterizide Wirkung auf den Staphylococcus ausüben.

Tabelle 2.
Anthrax.

Farbstoffverdünnung	Die Konzentration zur Bouillon	Methylenblau				Gentianaviolett				Methylviolett				Kristallviolett				Pyoctanin			
		3	6	12	24	3	6	12	24	3	6	12	24	3	6	12	24	3	6	12	24
1:50	1:250	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
1:100	1:500	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
1:200	1:1000	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
1:500	1:2500	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
1:1000	1:5000	31	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
1:2000	1:10000	20	26	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	25	15	8	26
1:5000	1:25000	∞	∞	72	2	4	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	24	126	147	∞
1:10000	1:50000	∞	∞	∞	192	60	35	5	—	—	—	—	—	—	—	—	—	∞	∞	∞	∞
1:20000	1:100000	∞	∞	∞	∞	∞	185	65	28	67	43	39	—	19	—	—	—	∞	∞	∞	∞
1:50000	1:250000	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	178	193	217	97	28	13	8	—	∞	∞	∞	∞
1:100000	1:500000	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	65	17	15	5	∞	∞	∞	∞
		Thionin				Safranin				Malachitgrün				Fuchsin				Eosin			
1:50	1:250	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞
1:100	1:500	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞
1:200	1:1000	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞
1:500	1:2500	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞
1:1000	1:5000	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞
1:2000	1:10000	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞
1:5000	1:25000	80	30	48	87	24	27	—	—	29	—	—	—	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞
1:10000	1:50000	162	108	280	215	40	62	198	107	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞
1:20000	1:100000	∞	∞	315	∞	∞	∞	∞	361	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞
1:50000	1:250000	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞
1:100000	1:500000	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞

Diese Versuche zeigen, daß auch auf die Anthraxbacillen das Kristallviolett die stärkste bakterizide Kraft entfaltet. Schon nach 3—4-stündiger Einwirkung beginnt das Wachstum erst bei einer Verdünnung von 1:100000, nach 6—12 Stunden von 1:500000. Wie in den vorhergehenden Versuchen mit dem Staphylococcus steht auch hier das

Generated on 2019-09-15 15:17 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Methylviolett in seiner Wirkung sehr dem Kristallviolett nahe. Annähernd gleich wirken Gentianaviolett, Malachitgrün, Thionin und Safranin. Nach 3—4-stündiger Wirkung dieser Farbstoffe auf die Anthraxbacillen bemerkt man Wachstum bei einer Verdünnung von 1 : 25 000 und nach 6 Stunden von 1 : 50 000; dann bleibt die Wirkung auf derselben Höhe. Das Pyoctanin wirkt auf die Anthraxbacillen viel schwächer als auf den Staphylococcus (Wachstum bei einer Verdünnung von 1 : 10 000). Noch schwächer ist das Methylenblau, bei welchem Wachstum erst nach 3 Stunden bei einer Verdünnung von 1 : 5000 und erst nach 12 bis 24 Stunden bei einer Verdünnung von 1 : 25 000 beginnt. Fuchsin und Eosin erwiesen sich, wie beim Staphylococcus, auch auf Anthraxbacillen ganz unwirksam.

Beim Vergleichen beider Versuchsreihen (Staphylococcus und Anthraxbacillus) sehen wir, daß die bakterizide Kraft der Anilinfarbstoffe viel stärker sich gegen die Anthraxbacillen, als auf den Staphylococcus äußerte. Was die Zeit der Einwirkung anbetrifft, so ist dieselbe von einer gewissen Bedeutung für die Bakterizidie.

Bei der mikroskopischen Untersuchung der Ausstrichpräparate aus den Röhrchen mit Kristallviolett, Gentianaviolett und Methylviolett konnten wir bemerken, daß man bei stärkeren Verdünnungen der Farbstoffe nur einzelne Anthraxbacillen findet, bei schwächeren aber um so mehr, je schwächer die Farbstoffverdünnung war; einige Bacillen schienen den Farbstoff gar nicht aufgenommen zu haben.

Tabelle 3.
Typhus.

Farbstoffverdünnung	Die Konzentration zur Bouillon	Methylenblau				Gentianaviolett				Methylviolett				Kristallviolett				Pyoctanin			
		3	6	12	24	3	6	12	24	3	6	12	24	3	6	12	24	3	6	12	24
1:50	1:250	542	∞	∞	∞	55	—	—	—	480	263	72	—	295	143	4	—	235	308	∞	∞
1:100	1:500	∞	∞	∞	∞	278	10	—	—	∞	∞	810	122	∞	285	110	—	∞	∞	∞	∞
1:200	1:1000	∞	∞	∞	∞	∞	820	81	3	∞	∞	∞	134	∞	∞	382	296	∞	∞	∞	∞
1:500	1:2500	∞	∞	∞	∞	∞	∞	362	182	∞	∞	∞	285	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞
1:1000	1:5000	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞
1:2000	1:10 000	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞
1:5000	1:25 000	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞
1:10 000	1:50 000	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞
1:20 000	1:100 000	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞
		Karmin				Safranin				Malachitgrün				Fuchsin				Eosin			
1:50	1:250	∞	∞	∞	∞	38	17	13	—	12	—	—	—	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞
1:100	1:500	∞	∞	∞	∞	725	295	94	61	310	120	—	—	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞
1:200	1:1000	∞	∞	∞	∞	∞	∞	920	635	∞	165	22	—	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞
1:500	1:2500	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	384	354	12	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞
1:1000	1:5000	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	150	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞
1:2000	1:10 000	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞
1:5000	1:25 000	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞
1:10 000	1:50 000	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞
1:20 000	1:100 000	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞

Aus dieser Tabelle ist ersichtlich, daß auf den B. typhi die Anilinfarben keine Wirkung haben. Nur Gentianaviolett, Malachitgrün und teilweise das Kristallviolett äußern auf den B. typhi ihre bakterizide Wirkung bei gröberen Farbstoffverdünnungen von 1 : 500 und 1 : 1000.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:17 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Bei diesen Verdünnungen konnten wir in hängenden Tropfen eine Verlangsamung der Bewegungen und manchmal das vollständige Fehlen derselben konstatieren. Im übrigen blieb die Bewegung vollständig bewahrt und in den Ausstrichpräparaten wurde eine große Zahl von Bacillen gefunden.

Diese Versuchsreihe zeigt, daß auf die Choleravibrionen das Methylviolett die stärkste bakterizide Kraft besitzt, das Kristallviolett steht ihm in der Kraft seiner Wirkung sehr nahe. Wie im ersten, so bekommt man auch im zweiten Falle Wachstum der Choleravibrionen nur bei einer Verdünnung von 1 : 50 000. Beim Kristallviolett bemerken wir nach 12-stündiger Einwirkung des Farbstoffes eine paradoxe Erscheinung; der Beginn des Wachstums zeigt sich nämlich erst bei stärkeren Verdünnungen, mit anderen Worten, es zeigt sich eine Gewöhnung der Vibrionen an die Farbe. Eine ähnliche Erscheinung konnten wir auch beim Thionin beobachten. Nach dem Kristallviolett kommen der Reihe nach das Malachitgrün und Gentianaviolett, unter deren Wirkung das Wachstum der Vibrionen bei Verdünnungen von 1 : 25 000 und nach 12—24 Stunden bei noch höheren Verdünnungen zustande kommt. Schwächer wirken Methylenblau, Pyoctanin und Thionin, unter deren Wirkung das Wachstum schon bei 1 : 5000 und 1 : 10 000 beginnt. Safranin besitzt eine unbedeutende bakterizide Kraft; Fuchsin und Eosin wirken, wie in den obigen Versuchen, gar nicht. Was die Zeit der Einwirkung anbetrifft, so hat dieselbe bei der Cholera nicht solche Bedeutung, wie bei den vorigen Versuchen. Im Gegenteil bemerken wir bei einigen Farbstoffen sogar mit der Zeit eine Gewöhnung an die stärkeren Verdünnungen des

Tabelle 4.
Cholera.

Farbstoffverdünnung	Die Konzentration zur Bouillon	Methylenblau				Gentianaviolett				Methylviolett				Kristallviolett				Pyoctanin		
		3	6	12	24	3	6	12	24	3	6	12	24	3	6	12	24	3	6	12
1 : 50	1 : 250	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
1 : 100	1 : 500	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
1 : 200	1 : 1000	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
1 : 500	1 : 2500	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
1 : 1000	1 : 5000	180	∞	∞	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
1 : 2000	1 : 10 000	∞	∞	∞	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	119	63	—
1 : 5000	1 : 25 000	∞	∞	∞	—	150	50	12	—	—	—	—	—	—	—	5	15	∞	48	—
1 : 10 000	1 : 50 000	∞	∞	∞	—	∞	∞	∞	∞	385	144	∞	∞	416	812	820	∞	∞	254	306
1 : 20 000	1 : 100 000	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞
1 : 50 000	1 : 250 000	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞
		Thionin				Safranin				Malachitgrün				Fuchsin				Eosin		
1 : 50	1 : 250	—	—	—	—	90	80	—	—	—	—	—	—	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞
1 : 100	1 : 500	—	—	—	—	∞	∞	25	—	—	—	—	—	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞
1 : 200	1 : 1000	—	—	—	—	∞	∞	∞	115	—	—	—	—	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞
1 : 500	1 : 2500	—	—	—	—	∞	∞	∞	∞	—	—	—	—	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞
1 : 1000	1 : 5000	—	—	—	—	∞	∞	∞	∞	—	—	—	—	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞
1 : 2000	1 : 10 000	—	5	40	—	∞	∞	∞	∞	—	—	—	—	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞
1 : 5000	1 : 25 000	∞	∞	∞	—	∞	∞	∞	∞	82	2	—	—	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞
1 : 10 000	1 : 50 000	∞	∞	∞	471	∞	∞	∞	∞	352	12	—	—	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞
1 : 20 000	1 : 100 000	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞
1 : 50 000	1 : 250 000	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:18 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Farbstoffes. Das Studium der hängenden Tropfen und mikroskopischen Präparate entspricht vollständig den Impfresultaten; wo auf den Petri-Schalen keine Kolonieen waren, ergab die mikroskopische Untersuchung der Präparate aus den Farbstoffbouillonröhrchen nur vereinzelte, schwach bewegliche oder gar unbewegliche Vibrionen, und in den Verdünnungen, wo wir eine genügende Zahl gut beweglicher Vibrionen fanden, erwies sich auch das Wachstum auf den Petri-Schalen ergiebig. In Fuchsin und Eosin verlieren die Vibrionen ihre Beweglichkeit auch bei Verdünnungen von 1:250 und 1:500 nicht.

Tabelle 5.
B. coli.

Farbstoff-verdünnung	Die Konzentration zur Bouillon	Gentianaviolett				Methylviolett				Kristallviolett				Malachitgrün				Fuchsin			
		3	6	12	24	3	6	12	24	3	6	12	24	3	6	12	24	3	6	12	24
1:50	1:250	617	65	10	—	320	—	—	—	450	—	—	—	—	—	—	—	∞	∞	∞	∞
1:100	1:500	∞	620	84	—	∞	512	246	—	720	14	—	—	—	—	—	—	∞	∞	∞	∞
1:200	1:1000	∞	∞	355	4	∞	∞	418	68	∞	112	55	6	35	26	15	4	∞	∞	∞	∞
1:500	1:2500	∞	∞	∞	210	∞	∞	∞	312	∞	∞	∞	65	365	354	150	32	∞	∞	∞	∞
1:1000	1:5000	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	80	∞	∞	∞	∞
1:2000	1:10 000	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	110	∞	∞	∞	∞
1:5000	1:25 000	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞
1:10 000	1:50 000	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞
1:20 000	1:100 000	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞

Auf B. coli haben wir nur 5 Farbstoffe wirken lassen, von denen 4 auf Grund der vorherigen Untersuchungen die stärkste bakterizide Kraft besitzen. Unsere Versuche zeigen aber, daß die Farbstoffe auf das B. coli nur sehr schwach wirken; das Wachstum der Bakterien hört erst bei einer Verdünnung von 1:500 auf und erst nach einer 24-stündigen Einwirkung. Es ist klar, daß das B. coli ähnlich dem B. typhi der Anilinfarbstoffwirkung sehr Widerstand leistet. Das Resultat der mikroskopischen Untersuchung der Ausstrichpräparate entspricht vollständig dem Wachstum auf den Petri-Schalen.

Tabelle 6.
Pneumococcus.

Farbstoff-verdünnung	Die Konzentration zur Bouillon	Gentianaviolett				Methylviolett				Kristallviolett				Malachitgrün				Fuchsin			
		3	6	12	24	3	6	12	24	3	6	12	24	3	6	12	24	3	6	12	24
1:50	1:250	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	∞	∞	∞	∞
1:100	1:500	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	∞	∞	∞	∞
1:200	1:1000	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	∞	∞	∞	∞
1:500	1:2500	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	∞	∞	∞	∞
1:1000	1:5000	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	∞	∞	∞	∞
1:2000	1:10 000	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	∞	∞	∞	∞
1:5000	1:25 000	215	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	∞	∞	∞	∞
1:10 000	1:50 000	∞	326	175	153	∞	∞	—	—	415	—	—	—	812	—	—	—	∞	∞	∞	∞
1:20 000	1:100 000	∞	∞	∞	∞	∞	∞	228	—	∞	∞	366	—	∞	210	187	—	∞	∞	∞	∞
1:50 000	1:250 000	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞
1:100 000	1:500 000	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞

Bei dem Pneumococcus stellten wir Versuche mit 5 Farbstoffen an. Diese besitzen, mit Ausnahme des Fuchsins, ganz bedeutende bak-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:18 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

terizide Wirkung auf den Pneumococcus. Mit Ausnahme des Gentianavioletts, unter dessen Wirkung das Wachstum bei einer Verdünnung von 1 : 25000 beginnt, beobachteten wir Wachstum bei den übrigen 3 Farbstoffen bei einer Verdünnung von 1 : 50000. Nach 24-stündiger Einwirkung hört das Wachstum bei der Verdünnung von 1 : 100000 auf. In dieser Serie äußerte wiederum das Kristallviolett seine bakterizide Kraft am stärksten.

Beim Vergleichen der 6 Versuchsserien, die wir mit 10 verschiedenen Anilinfarbstoffen mit 6 Bakterienarten unternommen haben, sehen wir, daß auf die Anthraxbacillen, Staphylokokken, Pneumokokken und Coli-Bakterien am stärksten das Kristallviolett wirkt; auf Typhusbacillen und Choleravibrionen aber Malachitgrün die größte bakterizide Kraft besitzt. Die anderen Farbstoffe, außer Fuchsin und Eosin, haben mehr oder weniger bedeutende bakterizide Wirkung auf alle von uns zum Versuche benutzten Bakterien. Die folgende Tabelle zeigt den Grad der bakteriziden Wirkung auf die 6 Bakterienarten. Bei der Zusammenstellung dieser Tabelle haben wir nur diejenigen Verdünnungen berücksichtigt, bei denen nach 24-stündiger Einwirkung des Farbstoffes Wachstum auf den Agarplatten beginnt.

Tabelle 7.

Farbstoffe	Anthrax	Staphylococcus	Typhus	Cholera	Coli	Pneumococcus
Kristallviolett	**1 : 500 000**	**1 : 50 000**	1 : 1000	1 : 25 000	**1 : 1000**	**1 : 25 000**
Methylviolett 5 B	1 : 250 000	1 : 50 000	1 : 100	1 : 50 000	1 : 1000	1 : 10 000
Gentianaviolett	1 : 50 000	1 : 10 000	1 : 1000	1 : 50 000	1 : 1000	1 : 50 000
Malachitgrün	1 : 50 000	1 : 10 000	**1 : 2500**	**1 : 100 000**	1 : 1000	1 : 250 000
Safranin	1 : 50 000	1 : 1000	1 : 500	1 : 1000		
Methylenblau	1 : 25 000	1 : 10 000	1 : 250	1 : 100 000		
Thionin	1 : 25 000	1 : 250	—	1 : 50 000		
Pyoctanin	1 : 10 000	1 : 25 000	1 : 250	1 : 100 000		
Fuchsin	1 : 250	1 : 250	1 : 250	1 : 250	1 : 250	1 : 250
Eosin	1 : 250	1 : 250	1 : 250	1 : 250		
Karmin			1 : 250			

In der folgenden Tabelle geben wir die Resultate der Versuche, die den Zweck hatten, die Wirkung von Anilinum purum auf die Bakterien aufzuklären, an.

Tabelle 8.

Anilinum pur.

Anilinverdünnung	Die Konzentration zur Bouillon	Staphylococcus				Anthrax				Typhus				Cholera			
		3	6	12	24	3	6	12	24	3	6	12	24	3	6	12	24
1 : 50	1 : 250	315	415	450	560	63	25	—	—	∞	∞	∞	∞	∞	150	—	—
1 : 100	1 : 500	645	810	670	710	87	56	143	135	∞	∞	∞	∞	∞	∞	510	3
1 : 200	1 : 1000	812	∞	∞	∞	98	78	161	185	∞	∞	∞	∞	∞	∞	840	55
1 : 500	1 : 2500	∞	∞	∞	∞	∞	∞	155	210	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞
1 : 1000	1 : 5000	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞
1 : 2000	1 : 10 000	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞
1 : 5000	1 : 25 000	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞
1 : 10 000	1 : 50 000	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞
1 : 20 000	1 : 100 000	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞

Aus diesen Versuche ersehen wir, daß das Anilin allein für sich keine bakteriziden Eigenschaften für die Bakterien besitzt; wir beobachteten

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:18 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

nur eine schwache Hemmung des Wachstums bei stärkeren Verdünnungen. Die Bakterizidität der Farbstoffe hängt demnach von anderen Bestandteilen derselben ab; leider können wir darüber aber vorläufig kein Urteil fällen, da wir in dieser Hinsicht keine genügende Zahl von Untersuchungen besitzen.

Nach den oben genannten Versuchen, in denen wir die bakteriziden Eigenschaften der Anilinfarbstoffe in vitro nachprüften, versuchten wir, die Bakterizidie der Farbstoffe in vivo bei Mäusen und Kaninchen zu kontrollieren. Zur Versuchsanstellung benutzten wir Kristallviolett, Methylviolett und Malachitgrün; von Bakterien nur den B. anthracis, da derselbe für Mäuse und Kaninchen pathogen ist. Bevor wir diese Versuche unternahmen, prüften wir die toxischen Eigenschaften der Farbstoffe für die Mäuse. Es hat sich dabei herausgestellt, daß die 3 erwähnten Farbstoffe, von denen 1 ccm und mehr in viel stärkerer Konzentration, als es für die bakterizide Wirkung in vitro notwendig ist, Mäusen subkutan injiziert, gar keine toxische Wirkung äußern. Nach diesen Vorversuchen stellten wir die Hauptversuche an, die den Zweck hatten, die bakterizide Wirkung der Farbstoffe in vivo zu kontrollieren. Wir begannen mit dem Kristallviolett, und zwar in der Weise, daß 2 ccm Bouillon mit 1—2 Oesen einer virulenten Anthraxagarkultur gut vermischt und dazu 0,5 ccm einer entsprechenden Verdünnung von Kristallviolett hinzugefügt wurden. Das Gemisch blieb während 3 Stunden im Thermostaten bei 37° C; 1 ccm dieses Gemisches injizierten wir Mäusen subkutan. Auf dieselbe Weise haben wir Versuche mit einer Bouillonkultur angestellt, von der wir 0,5 ccm injizierten.

Tabelle 9.
Kristallviolett.

No. der Mäuse	Die Menge des injizierten Gemisches	Die Menge des Farbstoffes	Die Konzentration des Farbstoffes	Die bakterielle Aufschwemmung	Brut-temperatur	Resultat des Versuches
1	1 ccm	0,5 ccm	1:5000	2 Oesen Anthraxagarkultur+2 ccm Bouillon	3	lebt
2	„	„	1:5000	dgl.	3	„
3	„	„	1:10000	„	3	„
4	„	„	1:10000	„	3	„
5	„	„	1:20000	„	3	† nach 68 St.
6	„	„	1:5000	0,5 ccm Anthraxbouillonkultur	3	lebt
7	„	„	1:10000	dgl.	3	† nach 72 St.
8	„	„	1:20000	„	3	† nach 62 St.
9	„	—	—	2 Oesen Anthraxagarkultur+2 ccm Bouillon	Kontrolle	† nach 48 St. (Anthrax)
10	„	—	—	0,5 ccm Anthraxbouillonkultur		

Diese Versuche zeigen, daß die Mäuse, denen subkutan eine virulente Anthraxkultur, die unter der Einwirkung von Kristallviolett in einer Verdünnung von 1:5000 resp. 1:25000 während 3 Stunden bei 37° C sich befand, injiziert war, am Leben blieben. Bei einer Verdünnung von 1:10000 ging eine von den 3 Mäusen, deren einer Bouillonkultur injiziert war, zugrunde; 1:20000 schützt die Tiere vor der Milzbrandinfektion nicht. Es ist aber zu bemerken, daß gegenüber den Kontrollversuchen diese Tiere etwas später verendeten.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:18 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle 10.
Malachitgrün.

No. der Mäuse	Die Menge des injizierten Gemisches	Die Menge des Farbstoffes	Die Konzentration des Farbstoffes	Die bakterielle Aufschwemmung	Brut-temperatur	Resultat des Versuches
1	1 ccm	0,5 ccm	1 : 2000	0,5 ccm Anthrax-bouillonkultur	3	lebt
2	„	„	1 : 2000	dgl.	3	„
3	„	„	1 : 5000	„	3	„
4	„	„	1 : 10 000	„	3	† nach 62 St.
5	„	—	—	„	Kontrolle	† nach 50 St. (Anthrax)

Aus dieser Tabelle ersehen wir, daß das Malachitgrün die Anthraxbacillen nach 3 Stunden bis zur Verdünnung von 1 : 10 000 neutralisiert; nur bei dieser Verdünnung verlieren die Bacillen ihre Kraft nicht, und Mäuse gehen, wenn auch etwas später als die Kontrolltiere, zugrunde. Nach diesen wurde eine ganze Reihe von anderen Versuchen angestellt, in welchen wir Mäusen subkutan ein ex tempore vorbereitetes Gemenge aus Farbstoff und Anthraxbacillen injizierten, und eine andere Versuchsreihe, wo zuerst Anthraxbacillen und nachher eine gewisse Farbstoffverdünnung injiziert wurde, und umgekehrt.

Tabelle 11.
Kristallviolett.

No. der Mäuse	Die Menge des injizierten Gemisches	Die Menge des Farbstoffes	Die Konzentration des Farbstoffes	Die bakterielle Aufschwemmung	Zeit der Injektion	Resultat des Versuches
1	1 ccm	0,5 ccm	1 : 5000	2 Oesen Anthraxagarkultur + 2 ccm Bouillon	ex tempore	lebt
2	„	„	1 : 5000	0,5 ccm Anthrax-bouillonkultur	dgl.	„
3	„	„	1 : 10 000	1 Oese Anthraxagarkultur + 2 ccm Bouillon	„	† nach 68 St.
4	„	„	1 : 10 000	0,5 ccm Anthrax-bouillonkultur	„	† nach 62 St.
5	„	„	1 : 20 000	2 Oesen Anthraxagarkultur + 2 ccm Bouillon	„	† nach 50 St.
6	„	„	1 : 20 000	0,5 ccm Anthrax-bouillonkultur	„	† nach 52 St.
7	„	—	—	2 Oesen Anthraxagarkultur + 2 ccm Bouillon	Kontrolle	† nach 49 St. (Anthrax)
8	„	—	—	0,5 ccm Anthrax-bouillonkultur	„	

Alle Versuche mit vorheriger Farbstoffeinverleibung und nachheriger Injektion von Anthraxbacillen ergaben ein negatives Resultat; die Mäuse gingen etwas später als die Kontrolltiere zugrunde. Aus diesen Versuchen geht klar hervor, daß bei gleichzeitiger Einverleibung des Farb-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:18 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle 12.

No. der Mäuse	Die Menge der injizierten Kultur	Die Menge des injizierten Farbstoffes	Die Konzentration des Farbstoffes	Zeit der Injektion des Farbstoffes	Resultat des Versuches
1	0,5 ccm Anthraxbouillonkultur	0,5 ccm Kristallviolett	1:2000	nach 1 St.	lebt
2	dgl.	dgl.	1:5000	dgl.	† nach 72 St.
3	„	„	1:10000	„	† nach 67 St.
4	„	1 ccm Malachitgrün	1:2000	„	lebt
5	„	dgl.	1:5000	„	† nach 70 St.
6	„	„	1:10000	„	† nach 72 St.
7	„	—	—	Kontrolle	† nach 50 St.

stoffes und der Anthraxbacillen nur diejenigen Mäuse am Leben blieben, denen der Farbstoff in der Verdünnung von 1:5000 injiziert war; bei schwächerer Konzentration gingen die Tiere zugrunde. Ganz analoge Resultate bekamen wir bei vorheriger Kulturinjektion und nachfolgender (nach 1 Stunde) Einverleibung des Farbstoffes in dieselbe Stelle.

An Kaninchen wurden die Versuche in der Weise durchgeführt, daß einigen von ihnen ein ex tempore vorbereitetes Gemenge von Anthraxbacillen und Farbstoff subkutan und anderen intravenös injiziert wurde. Auch hier war vorher festgestellt worden, daß nicht nur die subkutanen, sondern auch die intravenösen Injektionen von Farbstoff in Konzentrationen, die 1:2000 nicht überstiegen, keine schädliche Wirkung auf die Kaninchen ausüben.

Tabelle 13.

No. der Kaninchen	Die Menge des injizierten Anthraxmaterials	Die Menge des injizierten Farbstoffes	Die Konzentration des Farbstoffes	Die Injektionsstelle	Resultat des Versuches
1	1 ccm Bouillonkultur	1 ccm Kristallviolett	1:2000	subkutan	lebt
2	dgl.	dgl.	1:5000	„	„
3	„	„	1:10000	„	† nach 76 St.
4	„	„	1:5000	intravenös	† nach 52 St.
5	„	„	1:2000	„	lebt
6	„	—	—	subkutan	† nach 72 St.
7	„	—	—	intravenös	† nach 48 St.

Bei der intravenösen, wie auch bei der subkutanen Injektion von Kristallviolett schützt dasselbe die Kaninchen vor der Infektion in Verdünnungen von 1:2000; bei schwächeren Verdünnungen gehen die Kaninchen zugrunde.

Wenn wir die Wirkung des Farbstoffes in vitro und in vivo vergleichen, so bemerken wir einen wesentlichen Unterschied. In vitro ist die Wirkung des Farbstoffes auf Milzbrandbacillen viel schärfer ausgeprägt, das Wachstum auf den Kontrollplatten ist schon bei schwachen Verdünnungen (1:500000) zu bemerken; in dem Tierversuche ist die Wirkung begrenzt (1:10000, 1:5000). Wenn auch unsere Tierversuche bei weitem nicht vollständig sind, so glauben wir doch die Ansicht aussprechen zu dürfen, daß die hemmende Wirkung des Farbstoffes auf das Wachstum der Bakterien eine große Rolle spielt, während in vivo diese Eigenschaft wegfällt und wir hier ausschließlich mit der bakteriziden

Generated on 2019-09-15 15:18 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Eigenschaft des Farbstoffes zu rechnen haben, welche sich vollständig bei konzentrierten Verdünnungen zeigt. Es ist von Interesse, darauf hinzuweisen, daß, je länger die Milzbrandbacillen vor der Einverleibung in den Tierorganismus sich unter der Farbstoffwirkung befinden, desto schwächere Verdünnungen das Tier vor der Infektion schützen können. Damit wird die von uns auf Grund der Versuche in vitro oben angeführte Ansicht, daß die Zeit der Farbstoffwirkung auf die Bakterien von Bedeutung ist, bestätigt. Es sind selbstverständlich weitere Untersuchungen in dieser Richtung nötig, welche uns vielleicht interessante Angaben über die spezifische Chemotherapie der Infektionskrankheiten geben werden.

Gleichzeitig schien es uns nicht ohne Interesse, zu untersuchen, ob die Bakterien eine gewisse Gewöhnung an die Farbstoffe zeigen können. Vor kurzem hat Shiga beim Studium der bakteriziden Eigenschaften der Anilinfarbstoffe bemerkt, daß die Choleravibrionen sich verhältnismäßig schnell an die Farbstoffe gewöhnen. Diese an einen Farbstoff gewöhnten Bakterien zeigen auch nach seinen Beobachtungen sich resistent gegen andere Farbstoffe. Bei unseren Versuchen mit Choleravibrionen bemerkten wir eine Gewöhnung derselben an Kristallviolett; wir beschlossen deswegen, in einer Reihe von Spezialversuchen dieser hochinteressanten Frage näherzutreten. Zuerst stellten wir eine Reihe von Versuchen an, die das Ziel hatten, aufzuklären, ob der Milzbrandbacillus eine Gewöhnung an Farbstoffe äußert. Die Technik bestand darin, daß wir zu je 2 ccm Bouillon, die mit 2 Oesen Anthraxagarkultur beimpft wird, 0,5 ccm von verschiedenen Farbstoffverdünnungen hinzufügten; das Gemenge blieb bei 37° C im Thermostaten und nach 3, 6, 12 und 24 Stunden wurde auf Agarplatten übergeimpft. Das auf einigen Platten nach 18 Stunden konstatierte Wachstum halten wir für die I. Generation des Anthraxbacillus. Zur Erzielung der folgenden Generation nahmen wir zur zweiten Ueberimpfung in die Bouillon mit entsprechenden Farbstoffverdünnungen aus jeder Serie von Platten diejenige, wo das Wachstum entsprechend der stärksten Farbstoffverdünnung zustande kam. Nach der Ueberimpfung ließen wir wiederum das neue Gemisch im Thermostaten und nach 3, 6, 12 und 24 Stunden überimpften wir wiederum auf Agarplatten. Das auf diesen Platten konstatierte Wachstum betrachten wir als die II. Generation. Damit wollten wir feststellen, ob dabei die Anthraxbacillen bei immer stärkeren Verdünnungen des Farbstoffes Wachstum zeigen, d. h., ob sie eine Gewöhnung an die Farbstoffe besitzen.

Tabelle 14.

Kristallviolett — Anthrax.

Farbstoffverdünnungen	Die Konzentration zur Bouillon	3-stündige Platte	3	6	12	24	6-stündige Platte	3	6	12	24	12-stündige Platte	3	6	12	24	24-stündige Platte	3	6	12	24
		I. Gener.	II. Gener.				I. Gener.	II. Gener.				I. Gener.	II. Gener.				I. Gener.	II. Gener.			
1 : 2000	1 : 10 000		+	−	−	−		−	−	−	−		−	−	−	−		−	−	−	−
1 : 5000	1 : 25 000		+	+	−	−		+	−	−	−		+	−	−	−		+	−	−	−
1 : 10 000	1 : 50 000	−	+	+	+	−	−	+	+	−	−	−	+	−	−	−	−	+	−	−	−
1 : 20 000	1 : 100 000	+	+	+	+	+	−	+	+	+	+	−	+	+	+	−	−	+	+	−	−
1 : 50 000	1 : 250 000	+					+					−					−				
1 : 100 000	1 : 500 000	+					+					+					+				

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:18 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle 15.
Methylviolett — Anthrax.

Farbstoffverdünnungen	Die Konzentration zur Bouillon	3-stündige Platte	3	6	12	24	6-stündige Platte	3	6	12	24	12-stündige Platte	3	6	12	24	24-stündige Platte	3	6	12	24
		I. Gener.	II. Gener.				I. Gener.	II. Gener.				I. Gener.	II. Gener.				I. Gener.	II. Gener.			
1:2000	1:10 000		+	—	—	—		+	—	—	—		—	—	—	—		—	—	—	—
1:5000	1:25 000		+	+	+	—		+	—	—	—		+	—	—	—		+	+	—	—
1:10 000	1:50 000	—	+	+	+	—	—	+	+	—	—	—	+	+	—	—	—	+	+	—	—
1:20 000	1:100 000	+	+	+	+	+	—	+	+	+	+	—	+	+	+	+	—	+	+	+	+
1:50 000	1:250 000	+					+					—					—				
1:100 000	1:500 000	+					+					+					+				

Tabelle 16.
Malachitgrün — Cholera.

Farbstoffverdünnungen	Die Konzentration zur Bouillon	3-stündige Platte	3	6	12	24	6-stündige Platte	3	6	12	24	12-stündige Platte	3	6	12	24	24-stündige Platte	3	6	12	24
		I. Gener.	II. Gener.				I. Gener.	II. Gener.				I. Gener.	II. Gener.				I. Gener.	II. Gener.			
1:500	1:2500		+	+	—	—		—	—	—	—		—	—	—	—		—	—	—	—
1:1000	1:5000		+	+	—	—		—	—	—	—		—	—	—	—		—	—	—	—
1:2000	1:10 000		+	+	+	—		+	—	—	—		—	—	—	—		—	—	—	—
1:5000	1:25 000	+	+	+	+	+	—	+	+	—	—	—	—	—	—	—		—	—	—	—
1:10 000	1:50 000	+					+					—	+	+	—	—	—	—	—	—	—
1:20 000	1:100 000	+					+					+					+				
1:50 000	1:250 000	+					+					+					+				
1:100 000	1:500 000	+					+					+					+				

+ = Wachstum; — = kein Wachstum.

Diese Versuche zeigen, daß man nach 3-stündiger Einwirkung von Kristallviolett auf die I. Generation von Anthraxbacillen eine Gewöhnung der Bacillen an den Farbstoff konstatieren kann, weil die II. Generation schon bei stärkeren Konzentrationen wächst. Aus den Tabellen ersieht man, daß bei der I. Generation das Wachstum nur bei Verdünnungen des Farbstoffes von 1:20000 und bei der II. Generation aber bei 1:2000 sich äußerte. Nach 6 Stunden der Farbstoffeinwirkung bemerken wir schon wieder ein schwächeres Wachstum und nach 24 Stunden hört das Wachstum bei einer Verdünnung von 1:20000 auf. Analoge Resultate bekamen wir in den Versuchen mit den Choleravibrionen, d. h. Gewöhnung der Vibrionen an den Farbstoff nach 3—6 Stunden, und dann nach 12—24 Stunden Zurückkehren zu den Wachstumsbedingungen der I. Generation. Da bei dieser Versuchsanstellung es etwas schwierig war, gewisse Schlüsse über die Gewöhnung der Bakterien an die Farbstoffe zu ziehen, so beschlossen wir, die Versuchsanstellung zu ändern, wobei wir als Zeiteinheit die 3-stündige Farbstoffeinwirkung annahmen. Nach diesem Zeitintervall machten wir Ueberimpfungen, um die folgenden Generationen zu bekommen.

Aus den folgenden Tabellen ersehen wir, daß auf Grund der oben beschriebenen veränderten Technik der Versuchsanstellung es uns gelungen ist, das Wachstum der Vibrionen bei einer Verdünnung von 1:1000 schon in der III.—IV. Generation zu bekommen, während die I. Generation das Wachstum derselben bei Verdünnungen von 1:8000

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:18 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle 17.
Cholera.

Farbstoff-verdünnungen	Die Konzentration zur Bouillon	Kristallviolett						Malachitgrün					
		I. Gener.	II. Gener.	III. Gener.	IV. Gener.	V. Gener.	VI. Gener.	I. Gener.	II. Gener.	III. Gener.	IV. Gener.	V. Gener.	VI. Gener.
1 : 50	1 : 250					—	—					—	—
1 : 100	1 : 500					—	—				—	—	—
1 : 200	1 : 1000					—	—				—	—	—
1 : 500	1 : 2500				—	—	—				—	—	—
1 : 1000	1 : 5000				+	+	+			+	+	+	+
1 : 1400	1 : 7000				+					+			
1 : 1600	1 : 8000			—	+					+			
1 : 2000	1 : 10 000			+	+					+			
1 : 2400	1 : 12 000			+						+			
1 : 3000	1 : 15 000			+					—				
1 : 4000	1 : 20 000		—	+					+				
1 : 5000	1 : 25 000		+	+					+				
1 : 6000	1 : 30 000		+										
1 : 8000	1 : 40 000	—	+					—					
1 : 10 000	1 : 50 000	+						+					
1 : 15 000	1 : 75 000	+						+					
1 : 20 000	1 : 100 000	+						+					
1 : 50 000	1 : 250 000	+						+					

Tabelle 18.
Cholera.

Farbstoff-verdünnungen	Die Konzentration zur Bouillon	Gentianaviolett						Malachitgrün				
		I. Gener.	II. Gener.	III. Gener.	IV. Gener.	V. Gener.	VI. Gener.	I. Gener.	II. Gener.	III. Gener.	IV. Gener.	V. Gener.
1 : 50	1 : 250					—	—					—
1 : 100	1 : 500				—	—	—					—
1 : 200	1 : 1000				—	—	—					—
1 : 500	1 : 2500				—	—	—					—
1 : 1000	1 : 5000			+	+	+	+			—	—	—
1 : 1400	1 : 7000			+						—	—	—
1 : 1600	1 : 8000			+						+	+	+
1 : 2000	1 : 10 000			+					—	+		
1 : 2400	1 : 12 000			+					+			
1 : 3000	1 : 15 000			+					+			
1 : 4000	1 : 20 000		—					—	+			
1 : 5000	1 : 25 000	—	+					+	+			
1 : 6000	1 : 30 000	+	+					+				
1 : 8000	1 : 40 000	+						+				
1 : 10 000	1 : 50 000	+						+				
1 : 20 000	1 : 100 000	+						+				
1 : 50 000	1 : 250 000	+						+				
1 : 100 000	1 : 500 000	+						+				

—10000 gibt. Höher als bei 1 : 1000 konnten wir die Gewöhnung nicht erzielen. Viel schwächer erwies sich in unseren Versuchen die Gewöhnung des Milzbrandbacillus und der Staphylokokken an die Farbstoffe.

Diese Versuche zeigten, daß die Farbstofffestigkeit der Bakterien, besonders der Choleravibrionen, doch nicht bis zu vollständiger Resistenz kommt. Shiga benutzte bei seinen Versuchen anstatt Bouillon physiologische Kochsalzlösung, um einen für das Vibrionenwachstum günstigen Boden auszuschließen. Unsere Versuche geben in dieser Hinsicht auch

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:18 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

mit Kochsalzlösung ungünstige Resultate, das wir dabei gar keine Gewöhnung beobachten konnten.

Auf Grund der von uns ausgeführten experimentellen Versuche über die Einwirkung von Anilinfarbstoffen auf Bakterien können wir folgende Schlüsse ziehen:

1) Die Mehrzahl der Anilinfarbstoffe, mit Ausnahme der sauren, besitzt recht starke bakterizide Eigenschaften in vitro und in vivo.

2) Am meisten resistent gegen die Farbstoffe erwies sich der Typhusbacillus und Coli.

3) Anilin an und für sich besitzt keine bakteriziden Eigenschaften.

4) Am schärfsten und ausgeprägtesten äußern ihre bakterizide Kraft Kristallviolett, Methylviolett und Malachitgrün.

5) Die subkutane Einverleibung konzentrierter Farbstoffverdünnungen hat bei Mäusen und Kaninchen keinen schädlichen Einfluß auf dieselben.

6) Die bakterizide Kraft der Farbstoffe in vitro geht nicht derselben in vivo parallel, da man bei dem Schutze des Tieres vor der Infektion einer stärkeren Konzentration des Farbstoffes bedarf, als für die Wachstumshemmung in vitro. Dieser Umstand läßt annehmen, daß bei der Wirkung in vitro eine wesentliche Rolle nur der hemmende Einfluß des Farbstoffes auf das Bakterienwachstum spielt.

7) Auf dem Wege der Ueberimpfungen von Choleravibrionen in immer stärkere Farbstoffverdünnungen kann man eine Gewöhnung der Vibrionen an die Farbstoffe erzielen, die jedoch nur bis zu einem gewissen Grade geht, nach welchem sie nicht weiter schreiten kann.

8) Wir haben keine absolute Resistenz des Choleravibrio gegen den Farbstoff erzielen können.

Nachdruck verboten.

Zur Technik der Mikrofilarienfärbung.

[Aus dem Institut für Schiffs- und Tropenkrankheiten, Hamburg (Direktor: Prof. Dr. Nocht).]

Von Prof. Dr. **Friedrich Fülleborn.**

Mit 2 Tafeln und 3 Textfiguren.

Ein Fall von Doppelinfektion mit Microfilaria bancrofti und Microfilaria loa, bei welchem das bequemste differentialdiagnostische Merkmal, nämlich die verschiedene Lagerung der beiden Mikrofilarienarten im Trockenpräparat versagte — indem Microfilaria loa zum Teil in gerundeten Windungen, ganz wie eine Microfilaria bancrofti sich präsentierte[1]) —, gab mir den Anlaß, nach für den Kliniker brauchbaren neuen Mikrofilarien-Präparationsmethoden zu fahnden, und um

1) Nähere Angaben darüber siehe im Arch. f. Schiffs- u. Tropenhygiene. April 1914.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:18 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Grundlagen für letztere zu finden, frühere Untersuchungen[1]) über den Einfluß der verschiedenen Präparationsfaktoren fortzusetzen.

Als Material für die systematisch durchgeführten Serienuntersuchungen diente Microfilaria immitis, die stets von demselben Hunde (Hund Schmunzel aus Japan) entnommen wurde. Die Ergebnisse gelten daher einstweilen auch nur für Microfilaria immitis, wennschon Stichproben mit vom Menschen stammenden Material dafür sprechen, daß sie auch für die übrigen Mikrofilarienarten zutreffen.

A. Einfluß der verschiedenen Präparationsmethoden auf die Länge und Gestalt der Mikrofilarien.

Vgl. die in Anm. 1 zitierten Arbeiten.

B. Das Enthämoglobinisieren der „dicken Tropfen" mit Aqua destillata, physiologischer Kochsalzlösung und 60-proz. Alkohol.

a) Legt man gewöhnliche, eben erst trocken gewordene „dicke Tropfenpräparate" in Aqua destillata, bis das Hämoglobin aus der Schicht ausgezogen ist, und behandelt sie alsdann in der auf p. 439 besprochenen Weise weiter zu Hämatoxylin-Trockenpräparaten, so kann eine so starke Verquellung der Mikrofilarien zu konstatieren sein, daß einzelne Exemplare geborsten sind und ihr Zellinhalt herausquillt (Taf. I, Fig. 1 b). Mit der in den verschiedenen Abschnitten des Präparates verschiedenen Dicke der Blutschicht mag es zusammenhängen, daß dicht neben einer Gruppe von stark verquollenen Exemplaren recht gut erhaltene liegen können, während die Mehrzahl eine Mittelstellung zwischen diesen Extremen einzuhalten pflegt und mehr oder weniger verändert ist (Taf. II, Fig. 2).

Je längere Zeit nach dem Trockenwerden der Blutschicht verstrichen ist, um so weniger treten durch das Aqua destillata übermäßige Verquellungen ein, doch können sie — bei Microfilaria immitis wenigstens — noch einige (ca. 4) Tage nach der Blutentnahme sich störend bemerkbar machen.

Wird mit Aqua destillata enthämoglobinisiertes Material nicht zu Trockenpräparaten, sondern zu „Feuchtpräparaten" (vgl. p. 440) weiterverarbeitet, so sind diese Verquellungen ebenfalls mehr oder weniger störend.

b) Wird das getrocknete „dicke Tropfenpräparat" nicht mit Aqua destillata behandelt, sondern in physiologische Kochsalzlösung (0,9-proz.) eingelegt, so zieht der Blutfarbstoff merkwürdigerweise gleichfalls aus, und zwar ziemlich ebenso schnell als in Aqua destillata.

War das Präparat aber teilweise noch nicht angetrocknet, die Blutschicht aber schon fest geronnen — ich will solche fleckweise noch feuchten Präparate der Kürze wegen „Feuchtfleckpräparate" nennen —, so verschwindet der Blutfarbstoff aus der noch feuchten Partie (dem „Feuchtfleck") in der Kochsalzlösung[2]) überhaupt nicht.

Untersucht man ein derartiges mit NaCl behandeltes Präparat, so findet man die Mikrofilarien in dessen vorher fest angetrockneten und daher enthämoglobinisierten Abschnitten tot. In dem nicht-enthämoglobinisierenden „Feuchtfleck" leben sie jedoch, da physiologische Koch-

1) Untersuchung an menschlichen Filarien und deren Uebertragung auf Stechmücken. (Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg. 1908. Beih. 9). — Beiträge zur Morphologie und Differentialdiagnose der Mikrofilarien. (Ibid. 1913. Beih. 1.)

2) Ebenso zieht der Blutfarbstoff in Aqua destillata aus dem angetrockneten Abschnitt des Präparates erheblich früher heraus als aus dem „Feuchtfleck".

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:18 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Die Dicke von Mikrofilaria immitis bei verschiedenen Präparationsmethoden (Vergrößerung ca. 500:1).



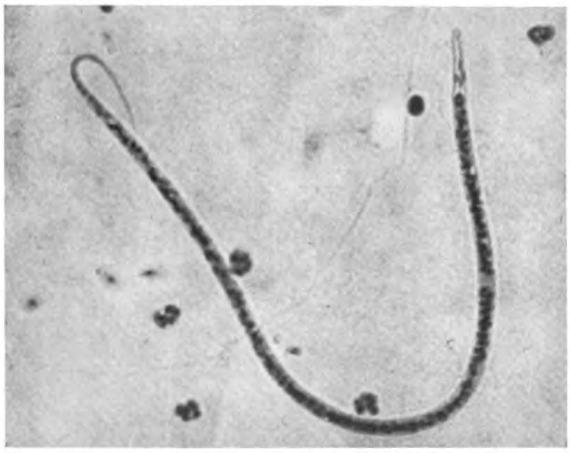
a) Gutes Exemplar (normale Präparation).



I. Trockenpräparat.
b) Verquollenes Exemplar; rechts oben „bruchsackartig" austretende Zellen (normale Präparation).



c) Verschrumpfung durch falsche Anwendung von Alkohol.



II. Feuchtpräparat aus „dicken Tropfen" (normale Präparation).

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:18 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Generated on 2019-09-15 15:18 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

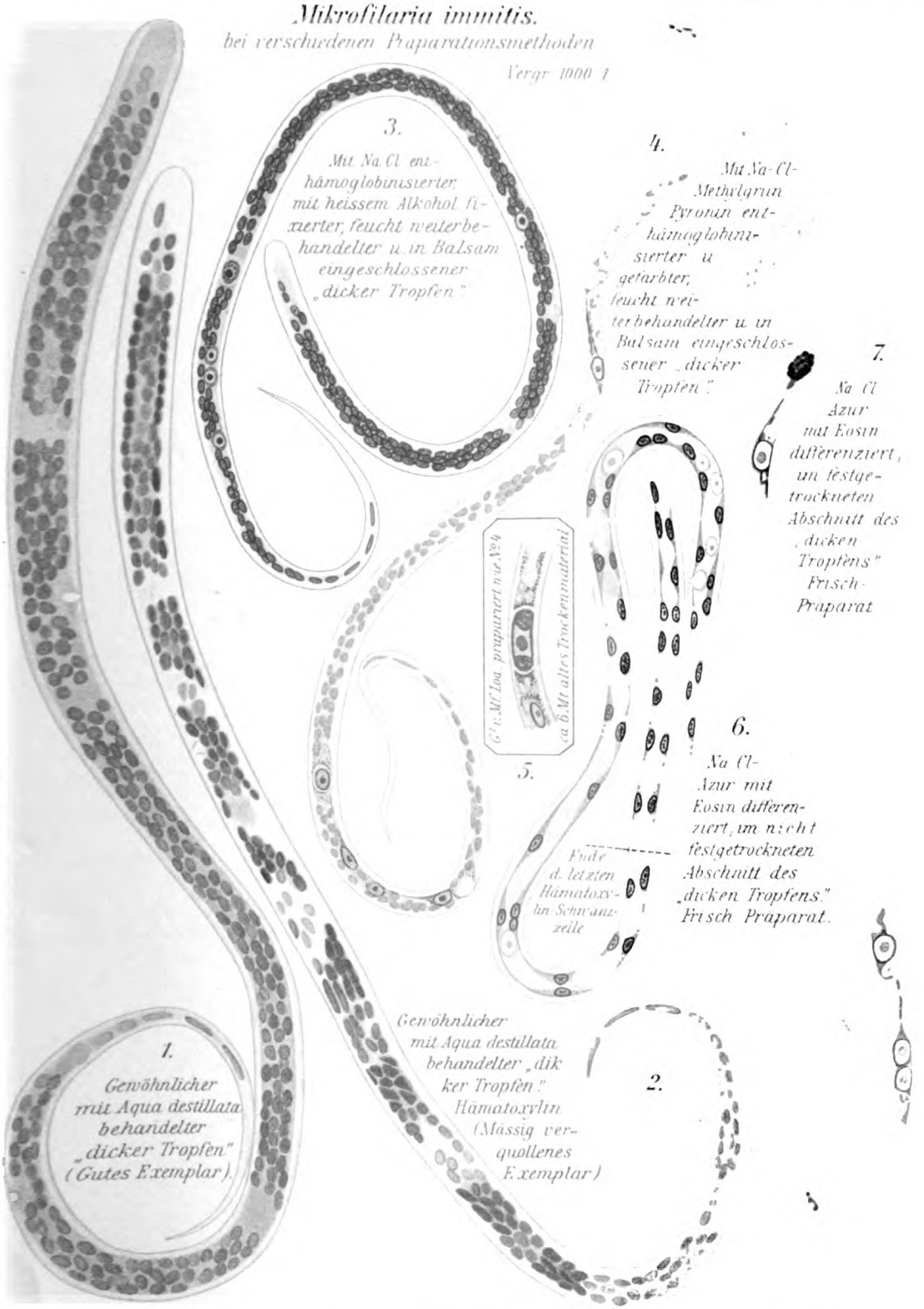
Digitized by Google

Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

Mikrofilaria immitis.

bei verschiedenen Präparationsmethoden

Vergr. 1000 1



Verlag von Gustav Fischer in Jena

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:18 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

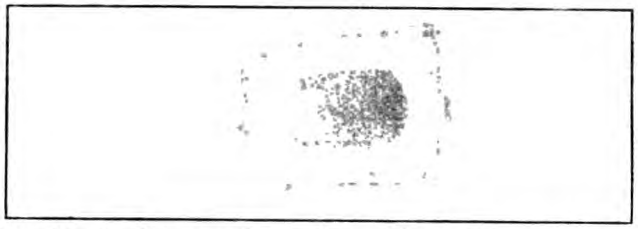
Generated on 2019-09-15 15:18 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Digitized by Google

Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

salzlösung sie ja nicht schädigt; ihre Bewegungen sind allerdings nur ganz gering, denn sie sind ja — und zwar meist in der für „Trockenpräparate" charakteristischen Lagerung — in der geronnenen Serumschicht festgemauert.

Außerdem leben die Mikrofilarien aber auch in demjenigen Teil des enthämoglobinisierten Blutabschnittes, der unmittelbar an den noch rot gebliebenen anstößt (die Enthämoglobinisierung des antrocknenden Blutes tritt also noch vor dem Absterben der Mikrofilarien ein), und wir können in dieser Zone daher lebende festgemauerte Mikrofilarien ohne störende Erythrocyten untersuchen. Diese „Feuchtfleckrandzone" hebt sich übrigens deutlich als heller Ring ab, wenn wir das eintrocknende noch unenthämoglobinisierte Blut in der Durchsicht betrachten (Textfig. 1).



Textfig. 1. Eintrocknender „dicker Tropfen" in der Durchsicht betrachtet. Die noch feuchte Stelle ist von einem hellen Hofe umgeben.

c) Bringt man ein bis auf den „Feuchtfleck" enthämoglobinisiertes Trockenpräparat aus Kochsalzlösung in 60-proz. Alkohol, so zieht letzterer auch das Hämoglobin des „Feuchtflecks" noch aus, und — wenn die Blutschicht nicht übermäßig dick war — erzielt man nach etwa einer Viertelstunde fast völlig vom Blutfarbstoff befreite Präparate; der Grad, bis zu welchem die Enthämoglobinisierung in 60-proz. Alkohol eintritt, variiert etwas nach der Tierart und ist auch nicht bei allen Personen der gleiche.

Die Mikrofilarien sind bei diesem Vorgehen, welches alle Vorteile des „dicken Tropfenpräparates" bietet, vor der Schädigung durch Aqua destillata bewahrt geblieben, und besonders gut erhalten sind die im „Feuchtfleck" und der „Feuchtfleckrandzone" liegenden Exemplare, die noch lebend dem fixierenden Einfluß des Alkohols ausgesetzt wurden (über die bei der Ausführung der Methode zu beachtenden technischen Einzelheiten siehe p. 440—441).

d) Wird ein „Feuchtfleckpräparat" ohne Vorbehandlung mit Kochsalzlösung direkt in (nicht erhitzten) 60-proz. Alkohol gebracht, so wird das Hämoglobin zwar aus dem „Feuchtfleck" und besonders aus dessen Randzone ausgezogen, nicht jedoch aus dem vorher fest angetrockneten Abschnitt des Präparates. Für die Praxis eignet sich diese Methode schon aus diesem Grunde nicht; überdies sind die Mikrofilarien dabei — im Gegensatz zu den mit Kochsalzlösung vorbehandelten — durch übermäßige Kontraktion auch in dem Feuchtfleck unbrauchbar.

e) Durch Uebergießen mit auf 60° C erhitztem 60- oder 70-proz. Alkohol wird das Hämoglobin in allen Teilen des Präparates schnell fixiert, so daß kaum Enthämoglobinisierung eintritt.

Bei mit Kochsalzlösung vorher enthämoglobinisierten Präparaten bewirkt der heiße Alkohol jedoch eine ganz treffliche Mikrofilarienfixierung (deren „Feuchtfleckabschnitt", abgesehen von der „Randzone", allerdings durch die mangelnde Enthämoglobinisierung unbrauchbar ist).

Selbst tagelanges Einlegen in kalten 60-proz. Alkohol vermag nach der Einwirkung von heißem Alkohol das Hämoglobin dicker Tropfenpräparate nicht auszuziehen; da jedoch die — allerdings relativ dünne — Blutschicht von nach Looss fixierten Präparaten (frisches, also un-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:18 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

geronnenes, Blut auf Deckgläschen gebracht und sofort in auf ca. 60° C erhitzten 70-proz. Alkohol gelegt) nach wochenlangem Aufenthalt in Alkohol noch vollständig ausgezogen wird, mag im Laufe längerer Zeit auch bei den dicken Tropfenpräparaten eine nachrägliche Enthämoglobinisierung eintreten.

f) Ebenso wie heißer Alkohol verhält sich scheinbar unerhitzte konzentrierte wässerige Sublimatlösung (resp. Sublimat-Essigsäure-Alkohol nach Schaudinn); d. h. das im dicken Tropfenpräparat vorhandene Hämoglobin wird anscheinend fixiert. Im Laufe der üblichen „Feucht-Weiterbehandlung" (cf. p. 440) tritt jedoch bei Sublimatmaterial eine genügende Enthämoglobinisierung ein, so daß nach Kochsalzvorbehandlung mit Sublimat fixierte „Feuchtfleckpräparate" bei vorzüglicher Mikrofilarienerhaltung nicht nur in den vorher enthämoglobinisierten Abschnitten, sondern auch im „Feuchtfleck" selbst untersucht werden können.

C. Einfluß der Fixierung und sonstigen Weiterbehandlung auf Erhaltungszustand und Dicke der Mikrofilarien.

a) Wohl am besten findet man den äußeren Habitus der Mikrofilarien konserviert — und erhält gleichzeitig ein „Standardmaß" für ihre Dimensionen[1]) —, wenn man sie im Sedimente einer 5-proz. Formalinlösung feucht untersucht. Ueber die Technik der Färbung und Weiterbehandlung von Formalinmaterial siehe p. 439.

b) In gewöhnlichen, mit Aqua destillata enthämoglobinisierten frischen Hämatoxylin-Trockenpräparaten (cf. p. 439) erscheinen die Mikrofilarien wie auseinandergequollen (resp. „platt angetrocknet") und sind etwas breiter als normal, zeigen mehr oder weniger starke Vakuolisierung und ihre feinere Anatomie ist größtenteils nicht mehr erkennbar (Taf. I, Fig. 1a und Taf. II, Fig. 1).

Werden die Präparate nach der Enthämoglobinisierung nicht getrocknet, sondern noch feucht direkt in Alkohol zwecks Fixierung übertragen, so schrumpfen sie — wenigstens Immitis — oft fadendünn zusammen und werden dadurch noch weniger brauchbar (Taf. I, Fig. 1c); sie sollen daher vor der Uebertragung in Alkohol absolutus wieder vollständig lufttrocken werden. Die Fixierung in absolutem Alkohol — 60-proz. genügt nicht — ist für eine gute Hämatoxylinfärbung notwendig.

In physiologischer Kochsalzlösung enthämoglobinisierte Präparate sind zur Trocken-Weiterbehandlung nicht geeignet, da sie sich auch nach Fixierung mit Alkohol ganz diffus färben; offenbar schädigt die beim Antrocknen sich mehr und mehr konzentrierende Kochsalzlösung die Würmer.

Will man bei ganz frischem Material die allzu starke Verquellung durch Aqua destillata vermeiden, so kann man die Vorteile der Kochsalzenthämoglobinisierung dadurch nutzbar machen, daß man die Präparate aus letzterem für einige Minuten in 5-proz. Formalin bringt und erst dann trocknet und mit Alkohol fixiert; die Färbung fällt zwar manchmal etwas diffus aus, jedoch sind die Präparate sonst gut. Sublimatfixierung an Stelle des Formalins hat hier keine wesentlichen Vorteile.

c) In „feucht" behandelten Dauerpräparaten (cf. p. 440) ist die feinere Struktur bekanntlich wesentlich besser erhalten als in

1) Vgl. Fülleborn, Beiträge zur Morphologie und Differentialdiagnose der Mikrofilarien (Arch. f. Schiffs- und Tropenhyg. 1913. Beih. 1) oder Die Filarien des Menschen im Handbuche von Kolle-Wassermann; ferner Bach, F., Ueber die „Mikrofilarienkulturen" von Wellman und Johns, nebst einigen Bemerkungen über die Messung der Mikrofilarien etc. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. 1913 Bd. 70 p. 50 ff.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:18 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Trockenpräparaten, aber die Dicke der Mikrofilarien ist erheblich geringer als bei lebensfrischem Material (cf. die Tafeln); teils ist dies eine Folge der zur Härtung benutzten stärkeren Alkoholkonzentrationen, teils der nachfolgenden Aufhellungsmittel. Je langsamer die Konzentrationssteigerung der Alkohole erfolgt und je vorsichtiger die Ueberführung in die Aufhellungsmittel von statten geht, desto geringer ist natürlich die Dickenabnahme.

Sublimatfixierung — und ähnlich verhalten sich wohl auch andere Fixierungsmittel — liefert Dauerpräparate mit etwas dickeren Mikrofilarien als bloße einfache Alkoholbehandlung; auch Heiß-Alkoholfixierung scheint in dieser Hinsicht günstig zu sein.

Von den Aufhellungsölen geben solche, die sich schon mit niederen Alkoholkonzentrationen mischen (Origanumöl, Cajeputöl, Bergamottenöl), die geringsten Dickenschrumpfungen; am besten wendet man sie zuerst in Mischungen mit Alkohol absolutus an. Zur Not genügt aber auch Uebertragung aus Alkohol absolutus in Xylol.

Glyzerinaufhellung nach Looss ($^1/_{20}$ Glyzerin zu 60-proz. Alkohol, verdunsten lassen und dann Glyzerin-Gelatine) lieferte keine dickeren Mikrofilarien als vorsichtiges Arbeiten mit den Oelen und hat den Nachteil, daß die meisten Farben im Glyzerin zu schnell ausblassen; die bei Glyzerin geringere Aufhellung ist für manche Untersuchungen anderseits ein Vorteil.

Von den bei Immitis-Material in der Höhe des Nervenringes angestellten Dickenmessungen seien die folgenden angeführt:

α) Bei frischen, ganz angetrockneten „dicken Tropfen“:

nach der NaCl-Enthämoglobinisierung	6,0—6,5 μ
nach der Sublimatfixierung	5,0—6,0 „
nach der Alkoholreihe (vor der Färbung)	4,5—5,0 „
nach der Hämatoxylinfärbung und Origanumölaufhellung fertig in Kanadabalsam	4,0—4,5 „

β) In nach Looss mit heißem 70-proz. Alkohol auf Deckgläsern fixiertem ungeronnenen Blute:

nach der Fixierung in dem heißen 70-proz. Alkohol	5,0 μ
nach Hämatoxylinfärbung und Glyzerinaufhellung fertig in Glyzerin-Gelatine	4,0—4,5 „
hämatoxylin- gefärbt in Kanadabalsam nach vorsichtiger Alkoholpassage und Origanumölaufhellung	4,0—4,5 „
hämatoxylin- gefärbt in Kanadabalsam nach schneller Alkoholpassage und Xylolaufhellung	4,0—3,5 „

γ) Mit NaCl enthämoglobinisierte und mit kaltem Alkohol weiterbehandelte frische „dicke Tropfen“ haben im Balsampräparat meist nur eine Dicke von etwa 3,5 μ, doch kommen neben dickeren auch dünnere Exemplare vor.

Als Material für „Feuchtpräparate“ dient entweder nach Looss auf Deckgläser in nicht zu dicker Schicht — sonst schwimmt diese ab — gestrichenes frisches Blut, oder man stellt „dicke Tropfen“ her, die nach NaCl-Enthämoglobinisierung mit der gewählten Fixierungflüssigkeit behandelt werden; letztere haben bei ebenfalls trefflichen Fixierungsresultaten den Vorteil, daß man recht bequem und mit dickeren Blutschichten arbeiten kann [1]). Am geeignetsten sind im allgemeinen „Feuchtfleckpräparate“ (cf. p. 428 u. 440); auch wenn man solche Fixierungsflüssigkeiten wählt, welche das Hämoglobin des „Feuchtflecks“ dauernd fixieren — und diesen daher undurchsichtig machen —, werden in der enthämo-

1) Bei der Heiß-Alkoholmethode nach Looss werden die Mikrofilarien in schön gestreckter Haltung fixiert, während sie bei feucht behandelten „dicken Tropfen“ nur in den „Feuchtflecken“ oft etwas gestreckter sind als in gewöhnlichen Trockenpräparaten und sonst ihre für letztere charakteristische Lagerung zeigen; beides hat seine Vorzüge und seine Nachteile.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:18 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

globinisierten „Feuchtfleckrandzone" liegende Exemplare ja noch lebend und daher besonders gut fixiert werden. Allerdings ist das Arbeiten mit ganz getrockneten dicken Tropfen etwas bequemer und genügt für den Kliniker auch vollkommen: Je frischer das Material ist um so besser, doch geben selbst einige Tage alte Präparate noch überraschend gute Resultate, während Wochen, oder gar Monate altes Material für Hämatoxylin-Feuchtpräparate nicht mehr genügend aufweicht und nur nach der Methylgrün-Pyroninmethode (cf. p. 412) oder zu gewöhnlichen Trockenpräparaten verarbeitet werden sollte.

D. Frischfärbungen[1]).

Die gewöhnliche Methode der Färbung von unfixiertem, frischem Mikrofilarienmaterial, die man gewöhnlich als „Vitalfärbung" oder besser als „Frischfärbung" bezeichnet, besteht darin, daß man etwas gelösten Farbstoff zu dem frischen Blute hinzufügt und alsdann so lange abwartet, bis der gewünschte Färbegrad eingetreten ist. Diese Zeit ist je nach der Konzentration des Farbstoffes in der Farb-Blut-Mischung, ferner der Temperatur und der Vitalität der einzelnen Mikrofilarienexemplare recht variabel, was eine längere Beobachtungszeit nötig macht; die Mikrofilarien sind zudem anfangs für die Beobachtung zu lebhaft, werden zum großen Teil von den roten Blutkörperchen überdeckt, und das Arbeiten mit „schwimmendem" Material bei Immersion und starken Okularen ist auch nicht angenehm, zumal wenn mit einem zweiten Farbstoff differenziert werden muß[2]). Dies alles macht die so überaus instruktive Frischfärbung unbequem und läßt Verbesserungen wünschenswert erscheinen.

a) Ist es erforderlich, dieselben Färbestadien wie bei gewöhnlicher Frischfärbung von volllebendigem Material zu erzielen, will man aber andererseits die allzu starke Beweglichkeit der Mikrofilarien und die sonstigen Nachteile des flüssigen Präparates möglichst eleminieren[3]), so kann man „Feuchtfleck"-Präparate (cf. p. 428 u. 441) in die mit physiologischer Kochsalzlösung verdünnte Vitalfarbe einlegen und später auch in derselben Weise mit einer anderen Farbe bequem differenzieren. In dem „Feuchtfleck" wirkt der Farbstoff ja auf volllebendige festgemauerte Exemplare ein und in der „Feuchtfleckrandzone" erhält man dieselben Resultate ohne durch rote Blutkörperchen behindert zu sein; arbeitet man mit einem „Vitalfarbstoff", welcher die roten Blutkörperchen färbt, enthämoglobinisiere man die „Feuchtfleckrandzone" vorher durch Einlegen in physiologische Kochsalzlösung (cf. Taf. II, Fig. 6).

b) Wie aber zuerst Rodenwaldt[4]) und auch Schilling-

1) Betreffs der verschiedenen für Trockenpräparate und gewöhnliche „Feuchtpräparate" in Betracht kommenden Färbungen verweise ich auf die „Filarien des Menschen" im Handbuch von Kolle-Wassermann; die Hämatoxylintechnik ist überdies bei den Präparations-Anweisungen auf p. 440 dieser Arbeit eingehend besprochen. Es sei hier nur erwähnt, daß auch Eisenhämatoxylin keine besseren Resultate liefert als gewöhnliches Böhmersches; Färbungen nach Gramscher Methode versagten übrigens. Die jüngst von Breinl (Australian Inst. of tropical Med. Rep. 1911. p. 20) empfohlene Färbung mit polychromem Methylenblau und nachfolgender Differenzierung mit Orange-Tannin lieferte mir weniger befriedigende Resultate als die sonst von mir benutzten Methoden.

2) Vgl. hierzu die „Filarien des Menschen" in Kolle-Wassermann.

3) Ganz fest ist die aufgeweichte Blutschicht der „dicken Tropfen" bei der hier empfohlenen Methode natürlich auch nicht, sodaß Deckglasdruck immerhin möglichst zu vermeiden ist; man mache die Blutschicht daher auch nicht zu dick.

4) Rodenwaldt, Differentialdiagnose zwischen Microfilaria nocturna und diurna. (Arch. f. Schiffs- und Tropenhyg. 1909. p. 215.)

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:18 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Torgau[1]) gezeigt haben, lassen sich jedoch einzelne Effekte der „Vitalfärbung“ auch noch bei eingetrocknetem Material erzielen, und zwar trifft das gerade für die Darstellung der differentialdiagnostisch wichtigen Zellen zu. Dies in Verbindung mit der Tatsache, daß man auch mit physiologischer Kochsalzlösung Trockenpräparate enthämoglobinisieren kann, ermöglichte die Anwendung der Rodenwaldtschen konsekutiven Azur-Eosin-Frischfärbung auf angetrocknete dicke Tropfenpräparate. Die genauen Vorschriften für die einfache Methode finden sich auf p. 441; die Mikrofilarien heben sich dabei prächtig gefärbt von einem nicht durch rote Blutkörperchen gestörten eosinroten Gesichtsfelde ab (Taf. II, Fig. 7).

Je frischer das Material ist um so besser, doch ergibt auch noch einige Tage altes brauchbare Resultate; wirklich gute Dauerpräparate lassen sich aber von so gefärbtem Material nicht herstellen (cf. p. 442), sondern die Mikrofilarien müssen frisch in der Farblösung (resp. in Kochsalz) untersucht werden.

In ähnlicher Weise wird man voraussichtlich auch mit anderen „Vitalfarben“ — z. B. mit Neutralrot zur Darstellung des Bancrofti-Innenkörpers — arbeiten können.

c) Die Methylgrün-Pyroninfärbung.

Die für die Mikrofilarienfärbung neue Methylgrün-Pyroninmethode (cf. p. 442) gehört, genau genommen, eigentlich nicht zu den „Frischfärbungen“, da das Methylgrün ja eine starke fixierende Wirkung ausübt; sie sei jedoch, weil sie mit ähnlicher Technik wie die Azur-Eosinmethode, d. h. mit sonst unfixierten „dicken Tropfen“ arbeitet, an dieser Stelle erwähnt.

Man kann Methylgrün-Pyroninpräparate ebenso wie Azur-Eosin-Frischfärbungen mit Vorteil gleich in der Farblösung (resp. nach Abspülen mit Kochsalzlösung) untersuchen, besonders wenn man die einzelnen Färbestadien verfolgen will; für gewöhnlich wird man allerdings die klaren, in Alkohol differenzierten und in Balsam eingeschlossenen Dauerpräparate bevorzugen, deren leichte Herstellung ein sehr wesentlicher Vorteli gegenüber der Azur-Eosinmethode ist.

Methylgrün-Pyronin färbt, was sehr angenehm ist, sämtliche Zellkerne der Mikrofilarien, und zwar blaugrün, auch die der Exkretionszelle und der „G-Zelle“; die differentialdiagnostisch wichtigen Zellen heben sich jedoch ungemein scharf (selbst in älteren Trockenpräparaten) von allen übrigen dadurch ab, daß ihr großer Nucleolus leuchtend rot ist, und daß sie von einem ebenso gefärbten Protoplasmamantel — der auch die Pori einsäumt — umgeben sind (Taf. II, Fig. 4).

Nicht nur für die differentialdiagnostischen Zwecke des Klinikers, sondern auch für feinere anatomische Untersuchungen über den Bau der großen Drüsenzellen und deren Verbindung mit den Pori bietet die recht einfache Methode große Vorteile.

E. Untersuchungen über die Konstanz der prozentualen Lage der „anatomischen Fixpunkte“ bei verschiedenen Präparationsmethoden.

Für die Bewertung der verschiedenen Präparationsmethoden ist es nicht unwesentlich, wie weit sie sich zur prozentualen Ausmessung der

1) Erwähnt bei Fülleborn, Beiträge zur Morphologie und Differentialdiagnose der Mikrofilatien. (Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg. 1913. Beih. 1. p. 11. Anm. 1).

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:18 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Die prozentuale Lage der anatomischen Fixpunkte von Micro-

	Anzahl der einzelnen Exemplare d. Serien [1])		Nervenring	Exkretions-porus
Serie I	20	Vital-Azur mit Eosindifferenzierung: Frischpräparat [2])	21,4 (20,8—22,8)	29,5 (28,4—30,9)
Serie II	20	Wie I	.	29,3 (28,5—31,0)
Serie III	18	Kurz vorher angetrockneter „dicker Tropfen“ nach Behandlung mit NaCl-Azur und Eosindifferenzierung; Frischpräparat	21,46 (20,5—22,7)	29,4 (28,1—31,3)
Serie IV	20	Blut mit heißem Alkohol fixiert (nach Looss), feucht weiterbehandelt, Färbung mit Hämatoxylin; Kanadabalsam	21,4 (20,3—22,6)	29,5 (28,2—30,7)
Serie V	15	Wie IV	22,5 (20,1—24,6)	31,0 (28,0—33,4)
Serie VI	25	Wie IV	22,5 (21,0—24,3)	.
Serie VII	12	„Dicker Tropfen“ zum Teil angetrocknet („Feuchtfleckpräparat“), mit NaCl enthämoglobinisiert, feucht weiterbehandelt. Fixiert mit Alkohol, gefärbt mit Hämatoxylin; Kanadabalsam	22,4 (21,4—23,5)	.
Serie VIII	10	Wie VII, aber eben fest angetrockneter „dicker Tropfen“ und nach NaCl-Enthämoglobinisierung mit heißem 60-proz. Alkohol fixiert	22,2 (21,0—23,8)	.
Serie IX	10	Wie VII, aber 6 Stunden nach dem Trocknen	22,85 (21,8—24,6)	.
Serie X	9	Blut in Formalin gebracht, Mikrofilariensediment getrocknet, mit Alkohol fixiert, getrocknet, mit Hämatoxylin gefärbt und getrocknet	22,3 (21,8—23,1)	.
Serie XI	11	Wie X, aber nach Alkoholfixierung mit Celloidin übergossen und „feucht“ weiterbehandelt	22,37 (21,9—23,2)	.
Serie XII	17	3 Stunden bis 4 Tage nach Anfertigung der dicken Tropfen mit Aqua dest. enthämoglobinisiert, getrocknet, mit Alkohol fixiert, getrocknet, mit Hämatoxylin gefärbt und getrocknet	21,7 (19,3—23,1)	.
Summa	187	Größtes und kleinstes Serienresultat	21,4 22,85	29,3 31,0

1) In bezug auf manche Meßpunkte (außer Nervenring und letzter Schwanzzelle) ist in einigen Serien die Exemplaranzahl geringer als die oben angegebene, da nicht immer alle Meßpunkte bei jedem Einzelexemplar sicher festzustellen waren. Ueber die letzte Schwanzzelle bei Serie VI vgl. Anm. 3.

2) Unter „Frischpräparaten“ sind solche gemeint, die im frischen Blutserum resp. in NaCl untersucht wurden. „Feucht weiterbehandelte Präparate“ sind im Gegensatz zu Trockenpräparaten solche, welche wie im histologischen Schnitt behandelt und nach Alkoholpassage und Aufhellungsmittel in Kanadabalsam eingeschlossen wurden.

3) Die Maße für Heiß-Alkohol-Feuchtmaterial nach Looss stimmen in Saisawas und meinen Tabellen nicht überein. Da in konserviertem Material der Endpunkt der gerade bei Microfilaria immitis ganz ungemein dünnen Schwanzspitze oft recht schwer festzustellen ist (man kann sie zu kurz annehmen, indem man das Ende nicht sieht, man kann aber auch andererseits fadenförmige Bildungen in der Serumschicht für noch zur Schwanzspitze gehörig ansprechen), lag die Vermutung nahe, daß meine

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:18 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

filaria immitis bei verschiedenen Präparationsmethoden.

Exkretionszelle	GI-Zelle	Analporus	Letzte Schwanzzelle	Ganze Länge in μ	Bemerkungen
35,5 (34,2—37,2)	61,9 (60,4—63,2)	75,4 (73,8—77,8)	.	304,6 (282,0—325,5)	Saisawa (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. 67. p. 68)
35,4 (34,4—37,1)	62,1 (59,6—64,6)	75,3 (73,7—77,1)	.	306,1 (264,5—329,0)	Saisawa (l. c.)
35,0 (33,2—36,8)	62,2 (61,1—63,9)	75,6 (74,3—77,2)	.	274,0 (243,4—293,3)	F.
35,6 (34,0—37,1)	62,0 (60,1—64,3)	74,8 (72,4—76,1)	90,9 (89,2—92,6)	229,1 (215,0—243,5)	Saisawa (l. c.)
36,8 (32,8—39,9)	64,4 (60,5—68,6)	77,8 (76,0—80,1)	91,8 (89,6—93,8)	243,9 (218,0—273,5)	F. (Arch. f. Sch.- u. Tropenh. 1913. Beih. 1. p. 69) [8]
.	63,05 (61,1—67,2)	.	[91,0]	235,5 (205,9—251,4)	F.
36,04 (33,8—37,4)	63,6 (61,4—65,4)	.	91,6 (89,3—94,3)	254,2 (240,6—280,3)	F.
.	.	.	90,7 (88,1—91,8)	247,0 (238,8—254,2)	F.
.	.	.	91,09 (88,0—94,4)	236,8 (217,0—252,5)	F.
.	.	.	90,9 (89,0—92,2)	286,6 (274,8—298,7)	F.
.	.	.	91,03 (89,6—93,1)	278,3 (272,0—301,5)	F.
.	.	.	92,0 (90,0—95,1)	262,0 (243,1—280,2)	F.
35,0 36,8	61,9 64,4	74,8 77,8	90,9 92,0	[229,1 306,1]	

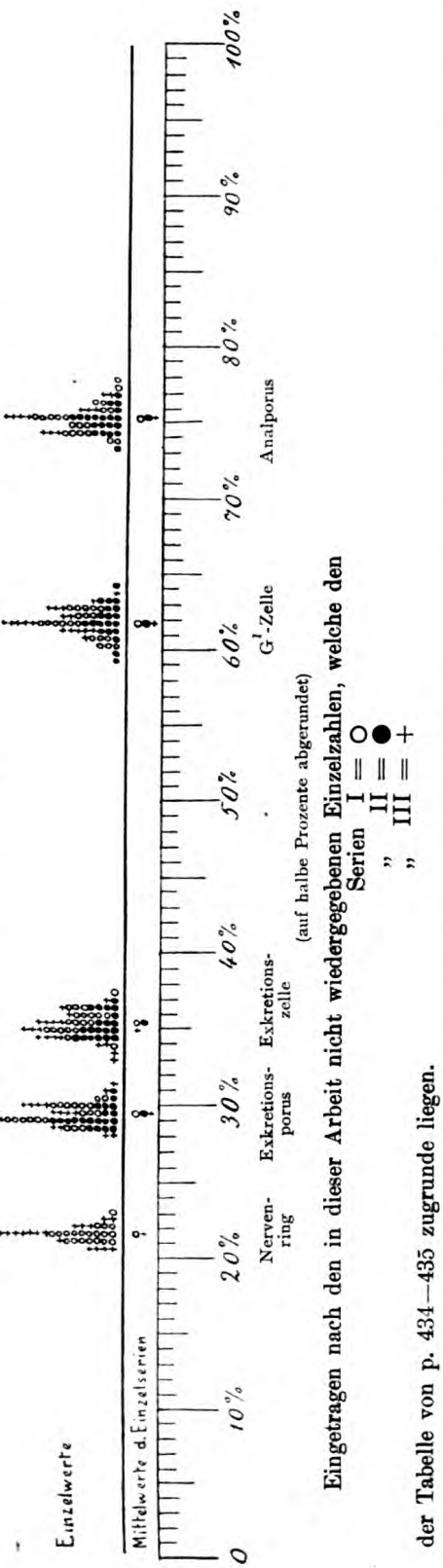
durchweg größeren Zahlen vielleicht dadurch zustande gekommen sein könnten, daß ich die Schwanzspitze zu kurz angenommen hätte, wofür auch meine für die „letzte Schwanzzelle" in Serie V berechnete Zahl sprechen würde. Aber selbst bei den äußersten Konzessionen in dieser Hinsicht bleiben meine Maße für den „Standard-Meßpunkt", den Nervenring über den Saisawaschen und damit, beiläufig bemerkt, auch über dem für „Frischmaterial" sowohl von Saisawa als von mir gefundenen. In Serie VI ist aus obigen Erwägungen die Lage des Nervenringes und der „GI-Zelle" für eine der Saisawaschen Zahl für die letzte Schwanzzelle entsprechende Gesamtlänge berechnet: aber selbst wenn man die letzte Schwanzzelle auf den niederen Wert von 89,5 setzt, bleibt die Zahl für den Nervenring in Serie V und VI größer als die entsprechende Saisawas.

Die noch nicht publizierten Nachuntersuchungen von Härpfer bei Microfilaria repens sprechen jedoch dafür, daß derartige Unstimmigkeiten innerhalb der Fehlergrenze (geringe Unterschiede in der Behandlung des Materials etc.) liegen könnten.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:18 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Diagramm I.

Die „Streuungsbreite" bei Frischpräparaten von Microfilaria immitis für



(auf halbe Prozente abgerundet)

Eingetragen nach den in dieser Arbeit nicht wiedergegebenen Einzelzahlen, welche den Serien I = ○ ● +
" II = =
" III = =
der Tabelle von p. 434—435 zugrunde liegen.

anatomischen Fixpunkte eignen, da diese, wennschon für den klinischen Gebrauch gar nicht in Betracht kommend, doch ein recht brauchbares Mittel zur Bestimmung zweifelhafter Arten ist.

Die zuzeit über Microfilaria immitis vorliegenden Meßergebnisse sind aus der Tabelle auf p. 434—435 ersichtlich.

Indem ich im übrigen auf meine ausführlichen Besprechungen der prozentualen Mikrofilarienausmessung verweise [1]), möchte ich hier nur folgende Punkte hervorheben.

a) Gleich nach dem Trockenwerden mit NaCl-Azur und folgender Eosindifferenzierung behandelte und in der Kochsalzlösung untersuchte Präparate (siehe die Methode p. 441) ergaben fast absolut genau dieselben Prozentzahlen für die anatomischen Fixpunkte wie im Serum „vital" gefärbtes Material (vgl. Tabelle Serie I—III); auch die „Streuungsbreite" war ungefähr die gleiche, wie aus dem Diagramm I hervorgeht. Man kann also — was für die Untersuchung viel bequemer ist — frisch gefertigte nach der NaCl-Azurmethode behandelte dicke Tropfen anscheinend mit demselben Ergebnis zur Ausmessung der Fixpunkte benutzen wie im Serum „vital" gefärbte und daher unverkürzte Mikrofilarien.

b) Natürlich ist eine Präparationsmethode für die prozentuale Ausmessung um so vertrauenerweckender und man kann sich mit einer um so geringeren Zahl von Einzel-

1) Siehe Beiträge zur Morphologie und Differentialdiagnose der Mikrofilarien. (Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg. 1913. Beih. I. p. 34 ff.)

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:18 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

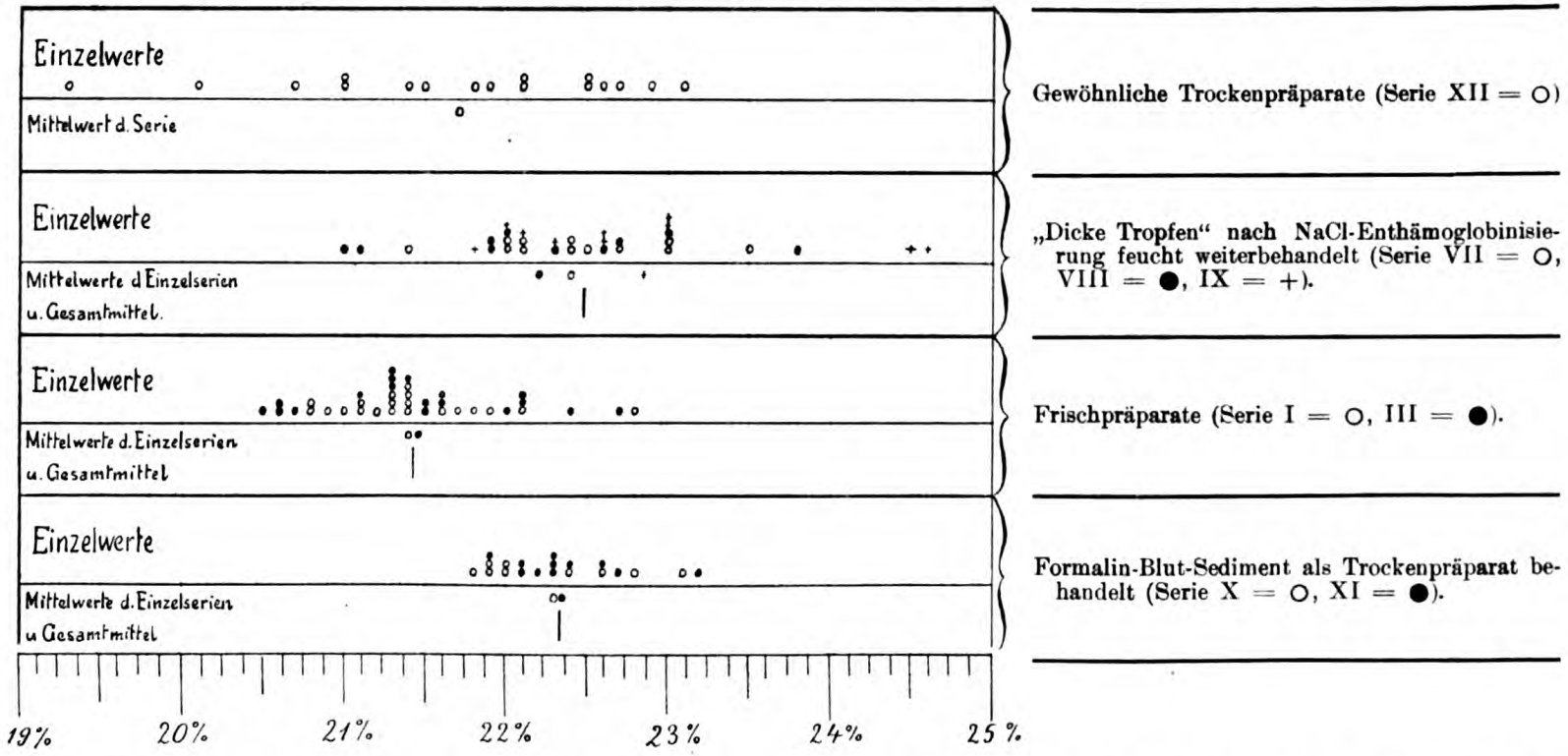
Generated on 2019-09-15 15:18 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Digitized by Google

Diagramm II.

Die „Streuungsbreite" für die Lage des Nervenringes von Microfilaria immitis bei verschiedenen Präparationsmethoden[1]).

(Ein Teilstrich = $^1/_{10}$ Prozent der Gesamtlänge der Mikrofilarie.)



1) Anmerkung zu obigem Diagramm: Die dem „Streuungs-Diagramm" zugrunde liegenden Einzelzahlen sind in dieser Arbeit nicht wiedergegeben; die Tabelle auf p. 434—435 enthält nur die Durchschnittswerte der betreffenden Serien.

Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

individuen dabei begnügen, je übereinstimmender die bei letzteren gefundenen Werte sind. Die Maximal- und Minimalzahlen geben dafür einen gewissen Anhalt, jedoch kann es vorkommen, daß durch ganz vereinzelte zufällig stärker abweichende Exemplare die Differenz zwischen Maximum und Minimum übermäßig groß erscheint; aus diesem Grunde sind Diagramme der „Streuungsbreite" instruktiver. Im Diagramm II sind die Einzelmessungen einiger Serien für den Nervenring, der ja der wichtigste der Meßpunkte ist, eingetragen: Nach dem vorliegenden, allerdings noch spärlichen Material scheint sich — für Microfilaria immitis wenigstens — zu ergeben, daß „Frischmaterial" (cf. Anm. 2 zur Tabelle p. 434—435) und die aus Formalin-Blutsediment hergestellten Trockenpräparate eine verhältnismäßig geringe Streuungsbreite aufweisen und daher zu prozentualen Messungen recht geeignet sind, während gewöhnliche Trockenpräparate am ungeeignetsten erscheinen [1]).

c) Vergleicht man die für den Nervenring gewonnenen Mittelwerte des Diagramms II miteinander [2]), so zeigt sich ferner, daß „Frischmaterial" eine kleinere Prozentzahl ergibt als die übrigen Methoden: dies würde heißen, daß bei Nicht-Frischpräparaten der hinter dem Nervenring gelegene Mikrofilarienabschnitt verhältnismäßig mehr schrumpft; doch sind die vorliegenden Serien zu klein, um verallgemeinernde Schlüsse daraus ziehen zu können [3]). Allerdings beträgt die Differenz zwischen dem kleinsten und größten der für den Nervenring gefundenen Serienmittel unter diesen 12 Immitis-Serien von je nur 10—20 Exemplaren (von zwei verschiedenen Hunden stammend) noch nicht 1,5 Proz. und dürfte bei genügend großen Serien wohl stets unter 2 Proz. bleiben.

Bei Mittelwerten versäume man nicht, außer den Maxima und Minima und der Zahl der gemessenen Exemplare auch die bei der Ausmessung angewandte Präparationsmethode anzugeben.

d) Hat man frisches Material zur Verfügung, so ist mithin der eben angetrocknete, mit NaCl-Azur und nachfolgender Eosindifferenzierung behandelte und noch feucht in Kochsalzlösung untersuchte dicke Tropfen zur prozentualen Ausmessung am geeignetsten [4]). Diese Färbung bringt alle Meßpunkte einschließlich des Nervenringes sehr klar zur Anschauung (und das Ende der Schwanzspitze ist dabei leicht zu erkennen), eine Ausnahme macht leider nur die letzte Schwanzzelle, die dabei ungefärbt bleibt; um letztere einwandfrei darzustellen, benutze man am besten Hämatoxylin [5]), obschon auch Methylgrün-Pyronin-Dauerpräparate nach der auf p. 442 gegebenen Vorschrift ebenfalls ganz geeignet sind [6]).

1) Nach den noch unpublizierten Untersuchungen von Härpfer ist auch bei Methylgrün-Pyronin die Streuungsbreite recht erheblich, so daß man dabei nicht unter 20 Individuen ausmessen darf.

2) Von den nach Looss behandelten Feuchtpräparaten der Serien IV—VI sehe ich einstweilen ab, da meine und Saisawas Zahlen dabei differieren (vgl. Anm. 3 zur Tabelle p. 434—435).

3) Vgl. auch den letzten Absatz der Anm. 3 der Tabelle auf p. 434—435.

4) Allzu stark gewundene und dabei auch in die Höhe resp. Tiefe gebogene Mikrofilarien wird man möglichst ausschalten, um durch die beim Zeichnen solcher Exemplare entstehenden „optischen Verkürzungen" keine zu kleinen Maße zu erhalten. Bei der Ausmessung in frischem Blute — und ebenso bei Heiß-Alkoholfixierung nach Looss — kommt dies wegen der gestreckten Haltung der Mikrofilarien viel weniger in Betracht.

5) Selbst bei dem in dieser Hinsicht recht schwierigen Immitis-Material bleibt man bei Hämatoxylinfärbung nur ganz ausnahmsweise im Zweifel, wo man die letzte Schwanzzelle einzuzeichnen hat, während sie in Azur-Frischpräparaten selbst bei sonst starker Ueberfärbung häufig nicht hervortritt.

6) Vgl. aber Anm. 1.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:18 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Hat man die Wahl zwischen Hämatoxylin-Trockenmaterial und „feucht" behandelten Präparaten, so sind letztere für die prozentuale Ausmessung vorzuziehen, obschon speziell die Pori — im Gegensatz zur Exkretionszelle und der G-Zellen — bei ersterer oft sogar leichter zu erkennen sind. Sehr klar treten alle Meßpunkte aber bei Methylgrün-Pyronindauerpräparaten hervor.

Formalin-Blutsediment nach dem Antrocknen der Mikrofilarien als Hämatoxylin-Trockenpräparat behandelt [resp. nach der Alkoholfixierung mit einer dünnen Celloidinschicht übergossen, um das Abschwimmen der Mikrofilarien zu vermeiden und dann natürlich wie ein Celloidinschnitt „feucht" weiter behandelt[1])], gibt bei Hämatoxylinfärbung verläßliche Maße für den Nervenring und zeigt die letzte Schwanzzelle gut, ist jedoch für die anderen Meßpunkte wegen mangelhafter Erhaltung der Struktur wenig geeignet; die absoluten Längen- (resp. Dicken-)Maße der Mikrofilarien in solchen Trockenpräparaten sind selbstverständlich nicht dieselben wie bei der Untersuchung in der Formalinlösung selbst.

Leider ist bei meinen zahlreichen Versuchen, die Mikrofilarien in der Formalinlösung selbst so zu färben, daß sie sich gleichzeitig zur Bestimmung der absoluten Länge und zur prozentualen Ausmessung der anatomischen Fixpunkte eignen, nicht viel herausgekommen. Am besten scheint dafür noch Hinzufügen von Azur II zur Formalinlösung (resp. Ueberfärben damit und dann Differenzieren mit Eosin) zu sein; besonders die lange in Formalin aufgehobenen Mikrofilarien sind ein recht refraktäres Material für Färbungen.

Anhang.

Die praktische Handhabung einiger in dieser Arbeit besprochenen Präparationsmethoden.

Obgleich Wiederholungen dabei unvermeidlich sind, scheint es für die praktische Handhabung der oben besprochenen Präparationsmethoden empfehlenswert, sie in übersichtlichen Rezepten einzeln zu behandeln. Als Ergänzung diene der vorangegangene Text; ferner verweise ich auf die „Filarien des Menschen" im Handbuch von Kolle-Wassermann.

I. Gewöhnliche Trockenpräparate.

(Sie genügen für die klinische Diagnose; nur die Entscheidung, ob Microfilaria bancrofti [nocturna] oder Microfilaria loa [diurna] vorliegt, ist damit nicht immer leicht; in solchen Fällen bringen die weiter unten besprochenen Methoden Klarheit, von denen Methylgrün-Pyronindauerpräparate für die Praxis am empfehlenswertesten sein dürften.)

Auf ganz fettfreien (mit Alk. abs. gereinigten) Objektträgern nicht zu langsam eingetrocknete „dicke Tropfen" — 2 bis 3 große Bluttropfen zu einer Fläche von 2×3 cm ausgebreitet — werden:

1) Mit Aqua dest. enthämoglobinisiert (je nach Alter und Dicke der Blutschicht 1 bis einige Minuten, nicht überflüssig lange in Aqua dest. lassen; Schichtseite „hohlgelagert" nach unten. Siehe auch Bemerkung a und b).
2) Getrocknet (siehe Bemerkung c).
3) Mit Alk. abs. fixiert (ca. 10 Minuten, besser länger).
4) Getrocknet.

1) Vgl. Fülleborn und Simon, Ueber das Vorkommen von Microfilaria volvulus etc. (Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg. 1913. Beiheft.) — Zuerst wurden Formalin-Mikrofilarien übrigens von Bach (l. c.) zu Färbungen benutzt.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:18 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

5) Mit Hämatoxylin-Böhmer kräftig gefärbt (Dauer richtet sich nach Farblösung und Alter des Präparates; etwa $^1/_4$ Stunde oder weniger genügt meist, längere Zeit ist besser und schadet nicht).

6) Nach Abspülen mit Wasser mit ganz schwacher Säure differenzieren, bis Serumschicht fast farblos (hierzu zweckmäßig etwa zehnfach zu verdünnende Stammlösung von 2 Proz. HCl; Differenzierung kann bei kurz gefärbten Präparaten fortfallen, ist aber empfehlenswert).

7) Abspülen mit Aqua dest. und dann für mehrere Minuten in Leitungswasser legen (empfehlenswert nach Abspülen erst für ca. 1 Minute in Leitungswasser mit etwa $^1/_2$ Tropfen Ammoniak).

8) Getrocknet.

9) Mit Cedernöl auf der ganzen Fläche zur Aufhellung bestreichen, um Auffindung der Mikrofilarien bei schwacher Vergrößerung zu erleichtern (das Cedernöl wird, wenn das Präparat aufbewahrt werden soll, mit Xylol sorgsam entfernt oder durch Kanadabalsam mit Deckglas ersetzt).

Bemerkungen:

a) Präparate, die älter als einige Wochen sind, lassen sich schlecht oder kaum noch mit Aqua dest. enthämoglobinisieren, eben erst trocken gewordene neigen andererseits zu übermäßigen Verquellungen durch letzteres: Am besten werden die Präparate daher bei Anwendung von destilliertem Wasser erst nach einigen Stunden oder noch später — im europäischen Klima schaden auch mehrere Tage sicher nicht — enthämoglobinisiert. (Da das Enthämoglobinisieren schneller geschieht, wenn die schweren Hämoglobinwolken nach unten absinken können, ist es zweckmäßig, die Präparate mit der Schichtseite nach unten auf den Rand eines Aqua dest. enthaltenden Petri-Schälchens zu legen, oder sie in ein damit gefülltes Glas einzustellen.)

b) Will man die Präparate sofort nach dem Trockenwerden der Blutschicht verarbeiten, so kann man zu starke Verquellung dadurch vermeiden, daß man statt mit Aqua dest. mit physiologischer Kochsalzlösung (0,9-proz.) enthämoglobinisiert, die noch feuchten Präparate für einige Minuten in 5-proz. Formalinlösung bringt, dann erst trocknet, und in der oben angegebenen Weise weiter behandelt; die Hämatoxylinfärbung wird aber meist nicht so distinkt als ohne Formalinpassage.

c) Nach dem Enthämoglobinisieren sollen die Präparate, wie in der Vorschrift angegeben, wieder lufttrocken gemacht werden; überträgt man sie noch feucht aus dem Aqua dest. in Alkohol, so können die Mikrofilarien von frischerem Material fadendünn zusammenschrumpfen.

II. Feuchtpräparate aus „dicken Tropfen".

(Bequemer Ersatz für die Fixation der Mikrofilarien in noch flüssigem Blute nach Looss; Laboratoriumsmethode zum Studium der feineren Anatomie; für den Kliniker zur sicheren Diagnose zwischen Microfilaria bancrofti und Microfilaria loa genügend, und bei Differentialzählungen zwischen beiden Arten bewährt.)

Möglichst frische, ganz lufttrockene, oder zu etwa einem Drittel der Fläche bei Durchsicht noch feucht aussehende „dicke Tropfen" (siehe Textfigur p. 429 und Bemerkung a und b) werden:

1) Mit Kochsalzlösung (0,9-proz.) 5 Minuten enthämoglobinisiert (Schichtseite „hohlgelagert" nach unten; siehe im übrigen Bemerkung c).

2) Fixiert (siehe Bemerkung d und e).

3) Durch Alkoholreihe bis Alk. abs. geführt (siehe Bemerkung d).

4) Von Alk. abs. durch Alkoholreihe zurück bis Aqua dest. gebracht.

5) Mit Hämatoxylin-Böhmer oder anderen Farbstoffen gefärbt (siehe Bemerkung f).

6) Durch Alkoholreihe bis Alk. abs. geführt.

7) Nach Aufhellungsöl in Kanadabalsam eingeschlossen (siehe Bemerkung g).

Bemerkungen:

a) Je frischer das Material um so besser; einige Tage alte Präparate sind zur Not noch brauchbar, in älteren weichen die Mikrofilarien aber nicht mehr genügend auf.

Generated on 2019-09-15 15:18 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

b) Benutzt man nur teilweise angetrocknete Präparate, so hat man den Vorteil, daß lebensfrische Mikrofilarien fixiert werden (cf. p. 428—429), die Blutschicht muß aber unter allen Umständen fest geronnen sein. Bei der trockenen Luft unserer heimischen Laboratorien — wohl kaum in den Tropen — kann es vorkommen, daß die Antrocknung bis zu dem gewünschten Grade noch vor der festen Gerinnung der Schicht eingetreten ist, und die Präparate lösen sich dann in der Kochsalzlösung ab; durch Einlegen der Objektträger in Petri-Schälchen läßt sich aber der Trocknungsprozeß leicht in gewünschter Weise regulieren (10—15 Minuten Trockenzeit, oft noch weniger, pflegen zu genügen).

Ganz lufttrocken gewordene Präparate, die etwas bequemer zu handhaben sind, genügen für klinische Zwecke aber vollkommen.

c) Die Kochsalzenthämoglobinisierung dauert bei frischem Material etwa 5 Minuten; in dieser Zeit weichen die Mikrofilarien auch genügend auf, während erheblich kürzerer oder längerer Aufenthalt in Kochsalzlösung nicht günstig wirkt.

Aus den ursprünglich nicht angetrockneten Stellen wird das Hämoglobin durch die NaCl-Lösung überhaupt nicht entfernt, es zieht aber nachträglich beim Uebertragen in 60-proz. Alkohol innerhalb einer Viertelstunde fast völlig aus; um unangenehme Hämoglobinniederschläge zu vermeiden, müssen die Präparate in dem 60-proz. Alkohol mit nach unten gerichteter Schichtseite „hohlgelagert" werden (siehe Methode I, Bemerkung a).

d) Zur Fixation genügt die gleichzeitig härtende Alkoholreihe. Wenn man schnell arbeiten will und nicht besonders gute Präparate erforderlich sind, kommt man mit 60-proz. Alkohol für ca. 5 Minuten — bei „Feuchtfleckpräparaten" müssen es der Nachenthämoglobinisierung wegen aber ca. 15 Minuten sein — 80-proz. Alkohol für ca. 5 Minuten, Alkohol abs. für ca. 10 Minuten aus; besser ist freilich eine abgestuftere Reihe (60, 80, 90, 96, abs.) und längerer Aufenthalt darin.

e) Statt des Alkohols kann man natürlich auch andere Fixierungsmittel auf die mit NaCl behandelte Blutschicht einwirken lassen, von denen das trefflich konservierende Sublimat (konzentrierte wässerige Lösung und nicht erwärmter Sublimat-Essigsäurealkohol nach Schaudinn sind gleich geeignet) den Vorteil bietet, daß die „Feuchtfleck"-Partie bei der Nachbehandlung noch enthämoglobinisiert, was bei der ebenfalls sonst recht guten Heiß-Alkoholfixierung nicht der Fall ist (cf. p. 429 unter B, e).

Sublimatgemische läßt man etwa 5 Minuten lang einwirken und wäscht dann einige Minuten mit ein paar Mal gewechseltem Wasser aus.

Zur Heiß-Alkoholfixierung erhitzt man unter gelindem Schwenken 60-proz. oder 70-proz. Alkohol in einem Glaskölbchen — ein Reagensglas ist wegen Ueberkochens zu feuergefährlich! — bis der erste „stoßende Ton" hörbar wird, und übergießt dann die in einem Petri-Schälchen liegenden Objektträger damit.

f) Hämatoxylinfärbung in der bei Methode I angegebenen Weise ist auch für Feuchtpräparate am geeignetsten. Die Exkretionszelle und die G-Zellen werden erst bei stärkerer HCl-Differenzierung deutlich, während, um die Pori und der letzten Schwanzspitze noch gut hervortreten zu lassen, die Entfärbung andererseits auch nicht zu weit getrieben werden darf; der richtige Differenzierungsgrad muß durch die Praxis erlernt werden.

g) Als Aufhellungsmittel empfiehlt sich Origanum-, Cajeput- und Bergamottenöl, am besten zuerst mit Alkohol āā gemischt, dann 2 Teile Oel und 1 Teil Alkohol, dann reines Oel, das durch Cedernöl und endlich durch Kanadabalsam ersetzt wird. Zur Not genügt aber auch Ueberführung aus dem absoluten Alkohol direkt in Xylol.

III. Frischfärbung (sog. „Vitalfärbung") von „dicken Tropfen", speziell die sukzessive Azur-Eosinmethode.

(Bequemerer Ersatz für „Vitalfärbungen" in flüssigem Blute; sehr gute Laboratoriumsmethode; bei frischem Material auch zur prozentualen Ausmessung der Mikrofilarien hervorragend geeignet; gestattet leicht Differentialdiagnose zwischen Microfilaria bancrofti und Microfilaria loa, ist jedoch wegen nicht gleichzeitig eintretender Optimalfärbung der Einzelexemplare für Auszählung von Doppelinfektionen mit diesen beiden Arten weniger geeignet als die Dauerpräparate liefernde Methode II und IV.)

Möglichst ganz frische, höchstens ein paar Tage alte „dicke Tropfen" (siehe Bemerkung a) kommen in:

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:19 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

1) Eine Mischung von 4 ccm einer leicht alkalisierten 1-proz. Azur II-Lösung zu 100 ccm 0,9-proz. NaCl, bis die Mikrofilarien ganz leicht bläulich angefärbt sind ($1^1/_2$—3 Stunden; siehe Bemerkung b).

2) Daraus für einige Minuten in Eosin (Marke: B. A. extra; Grübler) 1 : 1000 0,9-proz. NaCl bis der Farbeffekt der Figur Taf. II, Fig. 7 erreicht ist (10—20 Minuten in der Regel, aber nach Schichtdicke etc. verschieden lange; siehe Bemerkung c).

Die Untersuchung erfolgt in der Eosinlösung oder in reiner 0,9-proz. NaCl.

Bemerkungen:

a) Ueber die verschiedenen Effekte der Methode bei „Feuchtfleck"-Präparaten einerseits und ganz getrockneten Blutschichten andererseits siehe p. 432 unter D a u. b; ganz getrocknete Präparate sind bequemer zu behandeln.

b) Die 1-proz. Azur II-Stammlösung sei leicht alkalisiert (einige Kubikzentimeter einer 0,1-proz. Sodalösung auf 500 ccm Stammlösung); alte Lösungen färben besonders gut.

Der Aufenthalt im Azur darf nicht bis zur Färbung der gewöhnlichen Kerne ausgedehnt werden, sonst wird in der Regel durch die Eosinwirkung statt der gewünschten elektiven Färbung nur gewöhnliche Romanowsky-Färbung aller Zellkerne bewirkt; da Mikrofilarien, welche ganz an der Oberfläche der Serumschicht — die anscheinend auch eine Art „elektiv-filtrierender" Wirkung ausübt — liegen, sich bei der angegebenen Färbedauer mit allen Kernen im Azur anfärben, zeigen vereinzelte Exemplare (resp. einzelne Mikrofilarienwindungen) nach der Eosindifferenzierung in der Regel Romanowsky-Tinktion.

c) Die Eosindifferenzierung darf ebenfalls nicht zu lange ausgedehnt werden, und man unterbreche sie durch Abspülen mit 0,9-proz. NaCl, wenn der gewünschte Effekt erzielt ist, da sonst Eosinüberfärbung eintritt; zweckmäßig ist es, die Präparate erst einige Minuten in der Eosinlösung liegen zu lassen, sie dann ohne abzuspülen mit einem Deckglase zu bedecken und die weitere Differenzierung unter dem Mikroskope zu kontrollieren.

d) Wirklich gute Dauerpräparate lassen sich von den so gefärbten Mikrofilarien nicht anfertigen. Bei einfacher Trockenbehandlung verschrumpfen sie bis zur Unkenntlichkeit. Etwas bessere, aber auch nur recht mäßige Resultate gibt Trocknung über Osmiumdämpfen, was ich auf Anraten von Schilling-Torgau versuchte, während Formalin versagte. Bei dem Versuche, die Präparate in gewöhnlicher Weise als „Feuchtpräparate" weiterzubehandeln, wird die Farbe durch den Alkohol ausgezogen; etwas bessere, aber auch nicht befriedigende Ergebnisse liefern bei schnellem Arbeiten die von Giemsa für die „Feucht-Giemsa-Methode" vorgeschriebenen Aceton-Xylolmischungen [1]).

IV. Methylgrün-Pyroninfärbung.

(Zeigt sämtliche differentialdiagnostisch wichtigen anatomischen Einzelheiten in sehr klarer Doppelfärbung sogar noch bei älteren Trockenpräparaten und liefert dabei Dauerpräparate; Ausführung sehr einfach, so daß auch für klinischen Gebrauch recht empfehlenswert, wenn keine „Scheidenfärbung" — der Hauptvorteil der Hämatoxylinfärbung, welcher Methylgrün-Pyronin sonst weit überlegen ist — notwendig ist.)

Getrocknete „dicke Tropfen" (Bemerkung a) werden:

1) Eventuell kurz mit physiologischer Kochsalzlösung enthämoglobinisiert (Bemerkung b).

1) Will man mit Verzicht auf den Azur-Eosineffekt nur Azur-Dauerpräparate herstellen, so gelingt dies, wie bereits Rodenwaldt gezeigt hat, nach starker Ueberfärbung mit Azur II und nachfolgender Differenzierung (siehe Kolle-Wassermann) selbst noch bei altem Material; gewöhnliche Trockenpräparate lege man ohne vorherige Alkoholfixierung in die Farblösung.

Der Versuch, das Azur bei einer nur bis zum richtigen Färbegrad geführten Tinktion nach der Methode der Methylenblau-Nerven-Vitalfärbung mit molybdänsaurem Ammoniak zu fixieren, führte zu keinem Resultate, ebenso nicht andere Verbesserungsversuche. Die neue Methylgrün-Pyroninfärbung macht aber das Fahnden nach weiteren Methoden für Dauerpräparate der Exkretions- und der G-Zellen praktisch auch entbehrlich.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:19 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

2) In mit Kochsalz versetztem Karbol-Methylgrün-Pyronin nach Pappenheim-Unna gefärbt (etwa ½ Stunde, aber ohne Schaden auch erheblich länger; siehe Bemerkung c).

3) Durch schnelle Alkoholpassage differenziert und gleichzeitig entwässert (siehe Bemerkung d).

4) Nach Xylol mit Cedernöl übergossen oder zu Dauerpräparaten mit Kanadabalsam eingedeckt (siehe Bemerkung e).

Bemerkungen:

a) Mehrere Tage altes Trockenmaterial färbt sich ebensogut wie frisch getrocknetes, ja Wochen und selbst Monate altes gibt, wenn es sich dann noch enthämoglobinisieren läßt — resp. wenn es früher enthämoglobinisiert wurde — noch ganz gute Resultate (Taf. II, Fig. 5); nur teilweise fest angetrocknete Präparate haben keine Vorzüge, zumal das Hämoglobin des „Feuchtflecks" zu intensiv mit Pyronin gefärbt wird. In Alkohol feucht konserviertes Material ist für Methylgrün-Pyroninfärbung weniger brauchbar und älteres derartiges versagt fast ganz.

b) Enthämoglobinisieren ist für frisch getrocknete dicke Tropfen entbehrlich, obschon ein kurzes Einlegen in physiologische Kochsalzlösung den Untergrund noch klarer macht. Längere Einwirkung der Kochsalzlösung ist bei Karbol-Methylgrün-Pyronin nicht günstig; 1—2 Minuten genügen bei frischem bis 24 Stunden altem Material aber auch vollkommen, obschon in dieser Zeit nicht alles Hämoglobin durch die Kochsalzlösung ausgezogen wird. Für Präparate, die älter als 24 Stunden sind, ist kurze Enthämoglobinisierung in NaCl noch mehr zu empfehlen, da sich die Blutkörperchen sonst zu stark mit Pyronin färben; auch entsteht auf den nicht enthämoglobinisierten Flächen — besonders auf „Feuchtflecken" — durch Karbol-Methylgrün-Pyronin ein Niederschlag, der allerdings kaum schädlich ist, da er sich abspülen läßt.

c) Karbol-Methylgrün-Pyronin nach Pappenheim-Unna ist bei Grübler-Leipzig erhältlich, und daher ist die hier gegebene Vorschrift speziell auf diese Mischung ausgearbeitet; ich füge jedoch der Farblösung (die sich nach Filtrierung übrigens häufig wieder benutzen läßt) den 10. Teil ihres Volumens 9-proz. Kochsalzlösung hinzu, damit das in ihr enthaltene Aqua destillata die Zellen nicht schädigt.

Die Färbung ist schon nach ½ Stunde fertig, jedoch kann man die Präparate ohne schädliche Pyroninüberfärbung auch 3 Stunden lang — aber nicht allzu lange — in der Lösung lassen; die das Pyronin zum Teil wieder ausziehende Alkoholdifferenzierung braucht dann nicht überhastet zu werden. Will man die einzelnen Färbestadien im frischen Präparate genauer verfolgen, so kann man die Lösung bei entsprechend längerer Färbedauer mit dem gleichen Volumen einer physiologischen Kochsalzlösung verdünnen; verdünnte Lösungen vermeiden auch gelegentlich vorkommende Farbstoffausscheidungen an den Mikrofilarien.

Statt der fertigen und anscheinend — im heimischen Klima wenigstens — recht haltbaren Lösung kann man auch mit selbstgefertigten Methylgrün-Pyroninmischungen arbeiten (resp. die Färbekraft des käuflichen nach Wunsch durch Zusatz des einen oder des anderen der Farbstoffe modifizieren); es wäre für alle Fälle ratsam, pulverförmiges Methylgrün und Pyronin nach den Tropen mitzunehmen.

Erprobte Resultate bei ½- bis mehrstündiger Färbedauer und kurzer Alkoholdifferenzierung gibt eine Mischung von 0,2 Methylgrün und 0,05—0,1 Pyronin zu 100 physiologischer Kochsalzlösung, die man aus konzentrierteren Stammlösungen (reine Pyroninlösungen scheinen sich aber nicht gut zu halten) herstellt.

d) Die gleichzeitig entwässernde Differenzierung in Alkohol hat bei nur ½ Stunde lang gefärbten Präparaten recht schnell zu geschehen, bei mehrstündig gefärbten erfolgt sie langsamer. Am besten ist die Färbung, wenn in der vorderen Mikrofilarienhälfte nur die Exkretionszelle und die Umgebung des Exkretionsporus Pyroninton zeigen, alles andere blaugrün ist (Taf. II, Fg. 4): Kurz gefärbte Präparate differenziert man erfahrungsgemäß leicht zu stark, lange gefärbte zu schwach.

Es genügt die Passage durch 60-proz., 80-proz. und absoluten Alkohol; in den beiden schwächeren bleiben normal gefärbte Präparate unter Hin- und Herschwenken ungefähr 10 Sekunden, im absoluten 20—30 Sekunden; sehr lange gefärbte Präparate bedürfen zur Extraktion des Pyronins etwa der doppelten Zeit und mehr.

Schonender, aber kaum erforderlich, ist eine abgestuftere Alkoholreihe mit natürlich kürzerem Aufenthalt in den einzelnen Konzentrationen.

e) Als Aufhellungsmittel genügt Xylol vollständig, obschon Bergamottenöl etc. schonender ist. Will man die Präparate nicht aufheben, so übergieße man zur Untersuchung die ganze Fläche mit Cedernöl, sonst decke man mit säurefreiem Kanadabalsam ein. Etwa 4 Monate altes Material — über eine längere Beobachtungszeit verfüge ich nicht — ist noch so gut wie anfänglich.

Generated on 2019-09-15 15:19 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

V. Formalinmaterial.

Ueber seine Vorzüge und Behandlung siehe p. 439.

Zusammenfassung der wichtigsten Ergebnisse.

Zum Enthämoglobinisieren angetrockneter „dicker Tropfenpräparate" läßt sich ebensogut wie Aqua destillata auch physiologische Kochsalzlösung verwenden, wodurch die in Aqua destillata bei frischem Material auftretenden Verquellungen vermieden werden. Aus noch nicht lufttrocken gewordenen, aber bereits fest geronnenen Abschnitten „dicker Tropfenpräparate" wird der Blutfarbstoff durch die Kochsalzlösung nur an dem eben eintrocknenden Rande ausgezogen — die Mikrofilarien leben auch dort noch und können „festgemauert" und ohne störende rote Blutkörperchen untersucht werden —, jedoch geschieht die fast vollständige Auslaugung des noch im Präparat restierenden Hämoglobins beim Uebertragen aus der Kochsalzlösung in 60-proz. Alkohol.

Solche mit Kochsalz enthämoglobinisierte Präparate (selbst ein paar Tage alte Trockenpräparate sind noch brauchbar) liefern ein recht bequemes Arbeiten gestattendes Material sowohl für „Feuchtfixierungen" wie für „Frischfärbungen" (sogenannte „Vital"-Färbungen).

Sehr instruktiv ist an solchem Material die sukzessive Azur-Eosin-Frischfärbung; es eignet sich so gefärbt trefflich zur prozentualen Ausmessung der „anatomischen Fixpunkte" der Mikrofilarien, wofür aber auch als Trockenpräparate behandeltes und mit Hämatoxylin gefärbtes Formalin-Blutsediment recht gleichmäßige Werte liefert.

Sehr schöne, bei einfachster Technik die anatomischen Einzelheiten in klarer Doppelfärbung zeigende Mikrofilariendauerpräparate werden selbst bei älteren Trockenpräparaten durch das hiermit in die Mikrofilarientechnik eingeführte Methylgrün-Pyronin erhalten.

Nachdruck verboten.

Ein Thermoregulator mit Wasser für Thermostaten.

Von Dr. **L. v. Heydenreich,** Odessa.

Mit 1 Textfigur.

Auch in den größten Städten gibt es Wohnungen, die weder Gas, noch Elektrizität besitzen. Wer sich unter diesen Verhältnissen mit Untersuchungen von Mikroorganismen befassen muß, würde sehr bald auf gewichtige Schwierigkeiten stoßen, da ihm ein Präzisionsthermoregulator mangeln würde. Da ich mich teilweise in ähnlichen Verhältnissen befand und mich die „Kapselregulatore" nicht befriedigten, so verfiel ich auf den einfachen Gedanken, statt Gas oder Elektrizität Wasser zu verwenden, das nicht durch die Ausdehnung, sondern durch den Druck wirken sollte.

Ich erhielt sehr bald so zufriedenstellende Resultate, daß ich nicht zu irren glaube, wenn ich dieselben den mit Gas oder Elektrizität gewonnenen als ebenbürtig zur Seite stelle. Es betragen die Temperatur-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:19 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

schwankungen, Barometerschwankungen mitgerechnet, nicht mehr als einige Zehntelgrade. Nach längerer Prüfung und Untersuchung des betreffenden Apparates glaube ich mich berechtigt, jetzt schon über die Ergebnisse sowie die Konstruktion und Wirkungsweise des Thermoregulators den Interessenten Mitteilungen machen zu können, um so mehr als derselbe im Betriebe billiger ist als Gas oder Elektrizität.

Zuerst über den Thermostaten. Am billigsten wäre natürlich ein runder Zinkthermostat. Doch ist man sehr bald von der runden Form in der Praxis abgekommen, namentlich weil sie beim Arbeiten unbequem ist, beim Aufmachen des Deckels von oben alle Wärme sofort ausströmt und der Apparat lange Zeit braucht, um dieselbe wieder auf den früheren Punkt zu bringen. Außerdem ist die Wärmeverteilung beim Zinkapparat im Innern lange nicht so gleichmäßig, wie z. B. bei Kupfer und halb Kupfer, halb Zink läßt sich schon aus dem Grunde nicht brauchen, weil diese Metalle mit Wasser eine günstige galvanische Kette bilden, welche sie recht bald durchfressen und zerstören würde. Auch ist Zink ein bedeutend schlechterer Leiter für Wärme wie Kupfer, ungefähr 3mal schlechter.

So bleibt daher nichts anderes übrig, als die viereckige Form zu wählen und die Apparate aus Kupfer zu verfertigen. Solche Thermostaten sind jetzt in jeder Größe und von vorzüglicher Arbeit im Handel zu haben. Leider spukt dabei immer noch in den Köpfen der Verfertiger der alleinige Gedanke, recht schöne Ware zu liefern. Die Zweckmäßigkeit wird einfach ignoriert. Sie polieren nämlich inwendig die gewellten Kupferplatten so blank, wie sie nur können, und das ist ebenso falsch wie die langen Schlitze in den Zuführungsröhren der Reichertschen und anderen Regulatoren mit Gas, oder aber wie das Unterbringen des Eises „unter“ den Platten mit meinen darauf gestellten Gelatinedoppelschalen, anstatt das Eis „oben“ auf die Schalen zu legen. Ein poliertes Wellblech gibt strahlende Wärme ungefähr 8mal schlechter ab, als ein ebensolches Blech mit matter oder besser rauher Oberfläche.

Es sind deshalb die viereckigen kupfernen, innen gewellten Thermostaten nicht mit innen polierten, sondern matten, oder besser rauhen Oberflächen zu versehen.

Allerdings ist die Differenz in der Preislage eine ziemlich bedeutende, doch sind Bequemlichkeit beim Arbeiten, wesentlich bessere Wärmeverhältnisse und Unverwüstlichkeit des Apparates zu große Vorteile, als daß der Arbeitende vor dem Preise — ganz wie bei Anschaffung eines Mikroskopes — zurückschrecken sollte. Die Billigkeit während der Arbeit des Apparates macht diese Differenzen wieder einigermaßen gut.

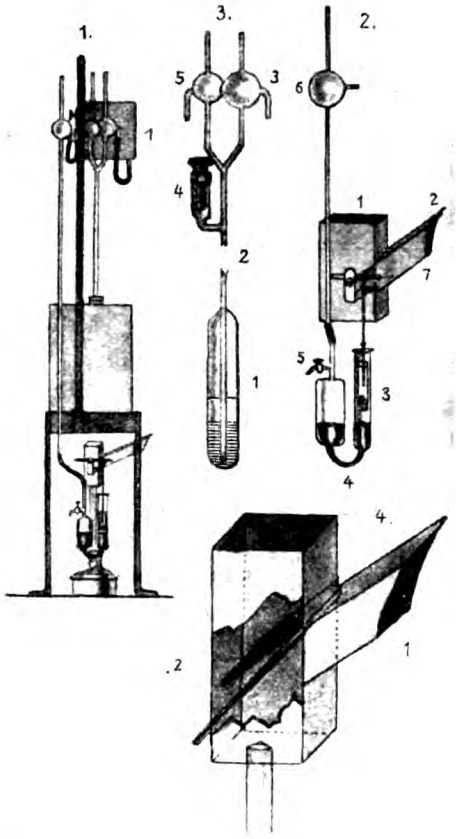
Der Schornstein, unter dem die Petroleumlampe zu stehen kommt, besitzt inwendig eine eiserne Klappe (Fig. 4 *2*). Dieser Schornstein hat eine Rohrabzweigung unter einem Winkel von ca. 45°, deren Oeffnung innen von der Klappe geschlossen werden kann, wenn man die Achse der Klappe von außen erfaßt und nach links hin dreht. Dreht man entgegengesetzt, so schließt die Klappe den Weg der Wärme nach oben zum Thermostaten ab und alle Wärme geht dann durch die freie Oeffnung in die Abzweigung ins Zimmer; der Thermostat muß dann erkalten. Die Amplitude, die die Klappe zwischen voller Oeffnung und voller Schließung macht, beträgt etwa einen Winkel von 50—60°.

Befestigt man nun an der Achse der Klappe außerhalb des Schornsteins ein Querstäbchen und an diesem ein kleines Gestänge (mit 2 Scharnieren), welches seinerseits fest im Pfropfen eines kleinen Zylinders sitzt, so wird, falls dieser Zylinder sich durch irgendetwas

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:19 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

hebt, auch das Gestänge, der Stab, die Klappenachse und schließlich die Klappe gehoben. Diese wichtige Bewegung des kleinen Zylinders hinauf und hinab wird auf eine sehr genaue und ständig wirkende Weise, durch die Einrichtung Fig. 2 *3*, *4*, *5*, *6* hervorgerufen.

In das U-Rohr *3*, *4*, *5* ist unten Quecksilber eingegossen, auf dem der kleine Zylinder *3* schwimmt. In den anderen Zweig *5 6* ist Wasser eingegossen und steht bis oben 2 Finger breit über der Kugel, im ganzen, vom Quecksilber an gerechnet, in ca. 130 ccm Höhe. Es ist ein ziemlich beträchtlicher Druck, der das Quecksilber im Zweige *3* auf 7—8 cm zum Heben und gleichzeitig durch das Gestänge den Querbalken, die Achse der Klappe und die Klappe zum Oeffnen bringt. Hierdurch wird der Thermostat erwärmt. Hört nun der Druck auf, z. B. durch Ausfließenlassen des Wassers durch den Hahn *5*, so fällt sofort das Quecksilber wieder auf 7—8 cm, der kleine Zylinder, der mit Schrot ca. 27 g wiegt, fällt mit ihm durch seine Schwere und schließt die Klappe auf dieselbe Weise, wie er sie vorher geöffnet hatte. Der Thermostat wird nun wieder erkalten.



Wäre es nun möglich, durch einen Regulator den Zufluß sowie die Unterbrechung des Zuflusses des Wassers so zu regulieren, daß beim Abkühlen des Thermostaten Wasser zufließt und beim Ueberhitzen Wasser aus *5* (Fig. 2) ausfließt, so wäre die Frage gelöst. Ein solcher Regulator existiert; ich beschrieb ihn bereits 1892 (Zeitschr. f. wiss. Mikrosk. Bd. 9. p. 301)[1]. In Fig. 3 ist er halb schematisch abgebildet. Das Reservoir *1* wird 3 Finger breit mit Methylenchlorid (Siedepunkt 41,6°) durch die Röhre *3*, *2* beschickt (alle anderen Oeffnungen sind geschlossen), darauf kommt 4 Finger breit Quecksilber. Jetzt setzt man auf die Oeffnung eine Radfahrerpumpe auf und pumpt so lange Luft durch Quecksilber und Methylenchlorid in das Reservoir, bis das Quecksilber in der Röhre *2* etwa 55—56 cm hoch steht. Da das ganze Rohr 76 cm bis zur Gabelverzweigung lang ist, so bleiben bis zur Vergabelung 20—21 cm frei. Stellt man nun den Regulator in Wasser von 37°, so steigt das Quecksilber sofort bis zur Vergabelung, vielleicht auch etwas höher. Da Wasserstoff die Wärme etwa 3mal besser leitet als Luft, so ist demselben beim Einpumpen der Vorzug zu geben.

1) In meinen „Methoden der Bakterienforschung" [russisch] 2. Aufl. ist er noch früher (1885) auf p. 122 beschrieben.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:19 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Jetzt wird der Regulator im Wasser des Thermostaten befestigt (dieses Wasser wird am besten bereits vorher auf 37° gebracht) und oben mittels Gummischläuchen teils mit dem vorbeschriebenen Kugelrohr *6* (Fig. 2) mit *5* (Fig. 3), teils der andere Zweig des Regulators *3* (Fig. 3) mit dem Kasten des Wasserstandes, wie in Fig. 1 angedeutet ist, verbunden. Dieser Wasserstand ist durchaus notwendig, da der Druck der Wasserleitung sonst viel zu stark wäre. Man bringt ihn an einem dicken, eisernen Stab in einer solchen Höhe an, daß das Wasser in den Kugelröhren 2 Finger breit höher steht wie die oberen Grenzen der Kugeln (Fig. 1).

Nun ist alles fertig für den Beginn der Wasserzirkulation. Gesetzt den Fall, das Quecksilber im Rohre *2* (Fig. 3) hätte den Verzweigungspunkt desselben noch nicht erreicht, so ist das Strombett für das Wasser frei, und es beginnt aus dem Wasserstandskasten durch den Gummischlauch in das Kugelrohr des Regulators *3* (Fig. 3) über die Verzweigungsstelle in den linken Zweig *5* über den Gummischlauch in das Kugelrohr *6* (Fig. 2), von da nach dem U-Rohr in den Zweig *5* zu fließen, und drückt hier so kräftig auf das Quecksilber, daß es im Zweige *3* den Zylinder 7—8 cm hochhebt und, wie oben auseinandergesetzt wurde, die Klappe im Schornstein öffnet. Der Thermostat und sein Wasser wird also erwärmt. Sobald dieses geschieht, erwärmt sich das Methylenchlorid im Regulator, drückt auf das Quecksilber und preßt es so stark hinauf, daß es in die Vergabelung steigt und den Wasserstrom unterbricht. Ist aber dieses erfolgt, so fängt alles Wasser in dem Kugelrohr *6* (Fig. 2) an, bei *5* aus dem Hahn tropfenweise auszufließen, denn der Hahn *5* ist entsprechend und dauernd aufgedreht. Steht das Wasser ganz hoch, so sollen die Tropfen nicht zu zählen sein, oder es kann sogar als feiner Strahl ausfließen. Auf diese Weise fließt alles Wasser aus der Kugelröhre aus, und natürlich hört der Druck auf das Quecksilber allmählich ganz auf, wobei das Quecksilber nebst Zylinder sinkt und die Klappe sich fest schließt. Der Thermostat wird also erkalten und mit ihm das Wasser.

Weiter geht es nun wie früher: Fallen des Quecksilbers im Regulator, Strömung des Wassers durch ihn hindurch, Füllen des Kugelrohres mit Wasser, Druck auf das Quecksilber, Hebung des Zylinders und Oeffnen der Klappe, und so geht das Heben und Senken, das Oeffnen und Schließen der Klappe in voller Abhängigkeit von höherer oder niederer Temperatur im Wasser des Thermostaten mit großer Sicherheit vor sich.

Wie gesagt, darf das Ausströmen aus dem Hahn *5* (Fig. 2) nicht zu rasch erfolgen; beim tiefsten Wasserstande, etwa eine Hand breit über dem Hahne, sollen die Tropfen nicht häufiger fallen als höchstens 1 in ½ Sekunde. Auch ist es vorzuziehen, statt eines Hahnes auf den Rohrstumpf ein kurzes Stück Gummirohr aufzusetzen und dieses entsprechend per Hoffmannschem Schraubenquetscher zusammenzudrücken. Die Gefahr der Verstopfung wird hierdurch nämlich bedeutend geringer. Alle Röhren für den gesamten Wasserlauf sollen nicht breiter sein wie 5 mm. Bei einer solchen Einrichtung wird immer mehr Wasser zufließen können, als bei *5* (Fig. 2) aus dem Hahne ausfließen kann, und das Füllen, sowie das Stehenbleiben des Wassers im Kugelrohre ist vollauf gesichert.

Um einer etwaigen Verstopfung der Ausflußöffnung durch winzige körperliche Elemente vorzubeugen, hat man ein Stückchen enges Messingdrahtnetz auf die Ausflußöffnung in dem Wasserstandskasten aufzulegen;

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:19 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

man kann beiläufig noch ein zweites zwischen Wasserleitungshahn und Wasserstand einschalten, doch ist das bei mir bis jetzt nicht nötig gewesen.

Die Petroleumlampe ist groß zu nehmen, damit sie $1^1/_2$—2 Tage nicht gefüllt zu werden braucht, doch ist es besser, wenn man sie täglich nachfüllt und dabei zugleich durch die Ausflußöffnung des Wassers bei *5* (Fig. 2) einen feinen Draht zieht, gleichviel ob ein Hahn oder ein Hoffmannscher Quetscher da ist. Je größer man die Flamme stellt, desto größer sind die Exkursionen, desto kürzere Zeit bleibt die Klappe offen und desto länger dauert die Schließung derselben. Hierdurch wird aber unnötigerweise viel Petroleum vergeudet. Am besten wählt man daher eine Flamme, die nur um Weniges größer ist als nötig, um den Thermostaten auf 37° C zu erhalten. Der Brenner muß auch groß sein und ein Lampenglas von 14—15 Linien aus Jenaer Glas haben. Täglich muß bei der Zufüllung der Lampe gleichzeitig auch der Docht oben gereinigt werden. Die Schraube *4* in Fig. 3 dient zum Einstellen des Quecksilbers genau auf die Vergabelung des Thermostaten, wenn im Innenraum eben 37° C erreicht sind.

Die Kosten für das Petroleum hängen namentlich davon ab, wie hoch man die Flamme brennen läßt. Im Mittel werden ungefähr im Jahre zwischen 114 und 180 kg (140 und 222 Liter) verbraucht, was weniger als 25—40 Mark kostet. Bei aufmerksamem und ökonomischem Verbrauch lassen sich diese Zahlen etwa um $^1/_3$ und mehr reduzieren.

Der Wasserverbrauch verursacht keine Kosten; nur da, wo er Gebühren untersteht, beläuft er sich auf 2—3 Pfg. pro Hektoliter, und es werden 50 Liter täglich 1—2 Pfg., und bei jährlichem Verbrauch von 188 hl etwa $2^1/_2$—$4^1/_2$ Mark verausgabt werden, also stellt sich das Arbeiten wesentlich billiger als bei Gas oder Elektrizität.

Unter das abfließende Wasser ist ein Trichter mit Ablaufrohr unterzubringen, welches in irgendein Abzugsrohr am Boden des Zimmers hermetisch einzumünden hat; doch soll es noch etwa 3 Finger breit in jenes Rohr einmünden, da auf diese Weise das Abzugsrohr immer eine Aspiration ausüben wird. Es kann also nie der Fall eintreten, daß das Wasser des Ablaufrohres zurückstaut in das Abzugsrohr des Thermostaten, wenn etwa in den oberen Stockwerken jemand zur selben Zeit Wasser ins Ablaufrohr abfließen läßt[1]).

1) Der Apparat wird bei R. Müncke (Berlin, Chausseestr. 8), der sich die Alleinverfertigung für Deutschland und Rußland gesichert hat, in zufriedenstellender Weise verfertigt (Vertreter für Rußland: W. Nurik, Odessa, Domplatz, H. Gaewski).

Inhalt.

Bornand, M., Contribution à l'étude du Bacterium salmonicida, p. 355.
Daniélopolu, D., Recherches sur l'étiologie du rhumatisme polyarticulaire aigu, p. 353.
Fülleborn, Friedrich, Zur Technik der Mikrofilarienfärbung, p. 427.
Heydenreich, L., Ein Thermoregulator mit Wasser für Thermostaten, p. 444.
Isabolinsky, M. u. **Smoljan, L.**, Ueber die Wirkung einiger Anilinfarbstoffe auf Bakterien. Nebst einem Beitrag über die Farbstofffestigkeit der Bakterien, p. 413.
Landois, Felix u. **Hoepke, Hermann**, Eine endoparasitäre Milbe in der Lunge von Macacus rhesus, p. 384.
v. Linstow, Trichosoma tuberculatum, p. 395.
Nawrotzky, N. N., Hämatoparasitologische Notizen, p. 358.
Pitschugin, P. I., Kultivierungsversuche mit Plasmodium vivax nach der Methode von Bass, p. 373.
Rettger, Leo F. and **Horton, George D.**, A comparative study of the intestinal flora of white rats kept on experimental and ordinary mixed diets, p. 362.
Rosenthal, Eugen u. **Patai, Joseph August**, Ueber die proteolytische Aktivität von Streptokokken-, Staphylokokken- und Coli-Kulturen, p. 406.
Skrjabin, K. J., Vergleichende Charakteristik der Gattungen Chapmania Mont. und Schistometra Cholodk., p. 397.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:19 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Centralbl. f. Bakt. etc. I. Abt. Originale. Bd. 73. Heft 7.
Ausgegeben am 2. Mai 1914.

Nachdruck verboten.

Untersuchungen über die Variabilität der Bakterien[1]).

IV. Mitteilung.

Ueber den Variationskreis des B. prodigiosum und B. violaceum.

[Aus dem Hygienischen Institut der Universität Breslau (Direktor: Geheimrat Prof. Dr. R. Pfeiffer).]

Von Dr. **Philipp Eisenberg,**
Assistenten am Hygien. Institut zu Breslau.

Mit der Variabilität des B. prodigiosum haben seit Schottelius, Wasserzug sowie Laurent zahlreiche Forscher sich befaßt und auch die neueste Zeit hat uns darüber ausgezeichnete Untersuchungen von Hefferan, Wolf sowie vor allem die bahnbrechende Arbeit von Beijerinck gebracht. Wenn ich es trotzdem unternommen habe, eigene Untersuchungen über dieses vielbearbeitete Thema anzustellen, so geschah es einerseits, um aus eigener Anschauung dieses klassische Objekt der Variabilitätsforschung kennen zu lernen, andererseits aber, um an diesem bequem handzuhabenden Material einige Spezialfragen zu behandeln.

Entsprechend den Erfahrungen, die andere sowohl als auch ich an verschiedenen Bakterienarten gemacht hatten, wurde auch hier eine Reihe von Stämmen zur Untersuchung herangezogen, da man auf diese Weise bessere Chancen hat, eine größere Variabilitätsskala vor die Augen zu bekommen. Die einzelnen Stämme unterscheiden sich voneinander durch gewisse Merkmale, die sie oft ziemlich hartnäckig festhalten und die vielleicht der Ausdruck ihrer verschiedenen Vorgeschichte sind. Die Stämme Prod. I—IV entstammen der Sammlung des Instituts, Prod. A entstammt derjenigen des Pasteur-Instituts in Paris. Außerdem wurden 2 Stämme von B. kielіense verwendet — der eine Br. aus der hiesigen Sammlung, der andere N. aus derjenigen des Krakauer Hygienischen Instituts. In Uebereinstimmung mit Lehmann und Neumann sowie Beijerinck halte ich dasselbe für identisch resp. eine Abart von B. prodigiosum.

I. Modifikationen und Mutationen bei Züchtung auf gewöhnlichen Nährböden.

Von alten Gelatine- oder Agarkulturen ausgehend, hat man mehrfach dauernd farblose Prodigiosum-Sippen herausgezüchtet (Schottelius, Wasserzug, Hefferan, Baerthlein). Besonders bekannt sind die Versuche von Schottelius, doch muß hier der zuweilen ausgesprochenen Meinung entgegengetreten werden, als hätte dieser Forscher sein Ziel durch Selektion erreicht. Nun ist aber aus den Versuchen von Johannsen, Tower u. a. bekannt, daß Selektion keine neuen Typen schaffen kann — vorausgesetzt, daß eine reine in den Rahmen der

1) Die hier mitgeteilten Ergebnisse wurden besprochen in einem Vortrag in der Med. Sektion der Schles. Ges. f. vaterländ. Kultur in Breslau am 14. Februar 1913 (s. Berlin. klin. Wochenschr. 1913. No. 17).

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:19 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Versuchsbedingungen unveränderliche Linie vorliegt. Die Schaffung von neuen Typen kann aber bei einer Population vorgetäuscht werden, indem dieselbe in ihre Komponenten zerlegt wird resp. ein in sehr geringer Anzahl vorhandener Anteil durch die Selektion zum herrschenden Typus wird. Auch für Bakterien dürften diese Grundsätze gelten. Es ist nämlich von Winslow und Walker diese „Ohnmacht der Selektion" für die Dextrosevergärung beim B. paratyphosum B dargetan worden, während die scheinbar für einen positiven Erfolg sprechenden Resultate bei der Diphtherie von Goodman sich durch Anpassungserscheinungen erklären lassen. Schottelius, der zu jener Zeit noch keine Plattenisolierung vornahm, hat auf dem mühevollen Wege einer Selektion aus zusammenhängenden Bakterienrasen die in der alten Kultur schon vorbestehende — wohl durch dysgenetische Faktoren geschaffene farblose Varietät herausgezüchtet. An dem Zustandekommen der Abart war die Selektion wohl unbeteiligt.

Ich selbst habe aus älteren bei Zimmertemperatur gewachsenen und aufbewahrten Schrägagarkulturen Plattenaussaaten gemacht und dabei bei verschiedenen Stämmen verschiedene Bilder zu sehen bekommen. So z. B. gab Stamm Prod. III bei Aussaat aus einem 115 Tage alten Röhrchen lauter typische hochrote Kolonieen. Stamm Prod. IV aus einem 168-tägigen Röhrchen ebenso — nur eine einzige Kolonie war in der Aussaat kleiner (nach 3 Tagen 1 mm Durchmesser statt 4 mm) und rosa gefärbt — doch erwies sich die Abweichung in weiterer Impfung als schnell vorübergehend.

Anders Stamm Prod. II. Hier ergab die Aussaat aus einem 112-tägigen Agarröhrchen (Besichtigung der Platten fast immer nach 3-tägigem Aufenthalt bei Zimmertemperatur): Mehrzahl der Kolonieen typisch rot, 2—4 mm im Durchmesser, zwei kleine rote Kolonieen (0,5 mm Durchmesser), spärliche rosa bis farblose Kolonieen von normaler Größe. Die weitere Aussaat der kleinen roten Kolonieen ergab schon in der folgenden Generation solche von normaler Größe, diejenige einer rosa und dreier farbloser Kolonieen ergab ein Gemisch von rosa und roten Kolonieen (letztere 5—75 Proz.) — eine andere rosa Kolonie ergab eine reine rosafarbene Nachkommenschaft. Die Weiterzüchtung dieser letzteren ergab in 8 aufeinanderfolgenden Plattenpassagen immer nur rosafarbene Kolonieen, ebenso die Nachkommenschaft einer typischen roten aus der ersten Aussaat. Wir finden hier also in der alten Kultur neben der fixierten rosafarbenen Mutante (sie entspricht der Beijerinckschen rosea 2) eine Variante, die sich durch herabgesetzte Wachstumsenergie kennzeichnet (solche werden öfter bei Aussaaten aus alten oder mit entwickelungshemmenden Mitteln versetzten Kulturen gefunden), die aber bei Fortzüchtung zur Norm zurückgeht.

Ebenso gelang es bei Prod. A gleich auf den ersten Anhieb bei Aussaat aus einer paar Monate alten Zuckeragarkultur eine rote und eine farblose Abart herauszuzüchten. Auf der ersten Platte waren überwiegend rote und nur wenige blaßrosa gefärbte Kolonieen zu sehen. In 10 weiteren Plattenpassagen waren die roten konstant rot, die blaßrosa gefärbten farblos. Daß diese letzteren auf der ersten Platte blaßrosa wuchsen, glaube ich mit Hefferan darauf zurückführen zu müssen, daß die Auffrischung der Kultur als starker Reiz gewirkt hat, der aus den fast achromogen gewordenen Keimen noch den letzten Rest ihres Farbstoffbildungsvermögens hervorgelockt hat — in den folgenden Passagen war der Reiz nicht mehr vorhanden und die Sippe wuchs farblos. Daß hier eine farblose Rasse entstanden war, ist am wahr-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:19 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

scheinlichsten dem Traubenzucker resp. der aus ihm gebildeten Säure zu verdanken.

Da nach den Beobachtungen von Beijerinck, Preisz, Bernhardt und Ornstein u. a., die auch ich bestätigt fand, Umschläge des Arttypus besonders leicht bei Züchtung in flüssigen Nährböden erzielt werden, habe ich unseren Prod. A auch in gewöhnliche Bouillon, Traubenzuckerbouillon sowie stark alkalisches Peptonwasser (für Cholera) eingesät und die Kulturen nach 4-wöchentlicher Entwickelung bei Zimmertemperatur durch Plattenaussaat auf ihren Typenbestand untersucht. Bei der Aussaat aus dem Peptonwasserröhrchen gingen neben typisch roten Kolonieen ca. 10 Proz. blaßgrau-rosa auf, die bei Weiterzucht ebenso, wie die vorhin erwähnten farblos wuchsen, und ca. 10 Proz. rosafarbene, die sich in 8 weiteren Plattenpassagen konstant hielten (also rosea 2 und 1). Die Bouillonaussaat (die Bouillon war etwas schleimig geworden) zeigte neben roten und farblosen eine Anzahl roter, kleiner, kuppelförmiger, schleimiger, tiefrot gefärbter Kolonieen mit radiärer Granulation, die 8 Plattenpassagen hindurch reinzüchteten (viscosa). Nur in der 6. Passage erschienen einige hochrote, durchscheinende, nichtschleimige Kolonieen, die isoliert 7 Passagen lang unverändert blieben (V. hyalina).

Die Traubenzuckerbouillon war nach 4 Wochen stark schleimig geworden und sie lieferte auch relativ viele neue Formen. Neben den typischen roten und farblosen Kolonieen fanden sich in der Plattenaussaat durchscheinende farblose Kolonieen (hyalina alba von Beijerinck?), sodann durchscheinende blaßrosafarbene (hyalina rosea 2, von Beijerinck nicht gesehen) — beide Arten durch ihre Transparenz und das Fehlen der radiären Streifung von der normalen roten und rosa Form unterschieden, beide in 8 Plattenpassagen konstant. Daneben fanden sich noch als interessante Neuheit (von Beijerinck nicht beschrieben) einige sehr kleine rote Kolonieen (0,25—1,0 mm Durchmesser gegenüber der normalen Größe von 2—4 mm). Solche kleine Kolonieen mit beschränkter Wachstumsenergie findet man öfters bei Aussaat aus irgendwie geschädigten Kulturen, doch erweisen sie sich dann meist als nicht konstant, sondern schlagen sofort oder allmählich zur normalen Größe zurück. Auch hier ergab die Aussaat von zwei solchen Kolonieen bereits in der nächsten Generation normalen Typus. Abweichend verhielt sich die dritte; die Aussaat zeigte die überwiegende Mehrzahl von Kolonieen des mütterlichen Typus, d. i. kleinste bis kleine, stark prominente, stark chagrinierte, rote Kolonieen, daneben 10 Proz. rote durchscheinende von normaler Größe (entsprechen der V. hyalina von Beijerinck). Wurde von einer solchen durchscheinend roten weitergeimpft, so erwies sie sich in einer Reihe von Plattenpassagen als konstant, eine Aussaat von einer kleinen Kolonie ergab immer wieder kleine und 5—20 Proz. große durchscheinend rote. Wir hatten es also mit einer ständigen Spaltung zu tun, die eine konstante Form entstehen ließ, und zwar eine, die in der Ausgangskultur nicht mitenthalten war — also kein Rückschlag im gewöhnlichen Sinne des Wortes. Die Abspaltung erfolgte aber noch auf eine andere sinnfälligere Weise — alterten nämlich die kleinen stark chagrinierten Kolonieen, so wuchs allmählich an ihrem Rande ein flacher, durchscheinend roter Ring heraus, der allmählich die eingeschlossene Kolonie an Größe vielfach übertraf und in seinem Gefüge ganz den Spaltlingen (V. hyalina) entsprach. Wurde aus dieser Randpartie weitergeimpft, so wuchsen überwiegend durchscheinend rote, große Kolonieen, nur wenige kleine, stark chagrinierte (da man wahrscheinlich

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:19 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

den Randbelag nicht rein wegbekommt). Es erinnern diese Verhältnisse sehr an das Verhalten des von Jacobsen beschriebenen B. typhi mutabile (auch ich werde in der folgenden Mitteilung über einen ähnlichen Typhusstamm berichten), andererseits an das Verhalten von Kolonieen des B. paratyphosum B, wie es von Reiner Müller beschrieben wurde. Im ersten Fall handelt es sich um einen Typhusstamm, der sehr kleine und langsam wachsende inagglutinable Kolonieen bildet; durch Umschlag werden in jeder Generation einige normal große Kolonieen gebildet, die nicht wieder zurückschlagen. Beim B. paratyphosum wachsen auf Gelatine unter dem Schleimwall der Kolonieen zarte, flache Beläge hervor, die bei isolierter Weiterzüchtung flache, nicht-schleimige, konstant bleibende Kolonieen ergeben. Also ebenso wie in unserem Fall, teilweise aber irreversibel umschlagende Sippen. Ich möchte solche gehemmte Varietäten, von denen wir noch weiter unten eine nichtumschlagende kennen lernen werden, als Var. nana (das bezieht sich natürlich nur auf die Kolonieform) bezeichnen (hier also V. nana rubra).

Endlich wäre noch eine Varietät zu erwähnen, die in der 7. Plattenpassage der reinen normalen roten Linie auftauchte. Es erschien nämlich unter lauter typischen roten Kolonieen eine einzige orangerote mit Metallglanz (aurata von Beijerinck), die dann 6 Plattenpassagen lang reinzüchtete.

Etwas abweichend war das Variationsbild der Kieler Stämme. Aus einem 2 Monate alten Schrägagarröhrchen von Kieliense N wuchsen ca. 80 Proz. undurchsichtig weiße Kolonieen, ca. 10 Proz. ebensolche rote (wie immer bei K. mit Stich ins Orange) und rosa, ca. 10 Proz. durchscheinende farblose schleimige. Die Aussaat von zwei weißen Kolonieen ergab eine in 10 Plattenpassagen konstante farblose Nachkommenschaft. Die roten der Originalplatte wiesen eigentümliche Zeichnungen auf, die zuweilen auch bei anderen Stämmen (Prod. I) beobachtet wurden — nämlich Kolonieen mit weißen und orangeroten Sektoren von verschiedener Breite und Anzahl, die untereinander abwechseln — die gefärbten Sektoren reichen oft nicht ganz gleichmäßig bis an den Rand heran, sondern sind radiär gefranst — das Ganze bietet das Bild eines etwas abenteuerlichen Ordenssternes. Die Vermutung, daß es Mischkolonieen von roten und weißen sind, trifft nur selten zu — man müßte ja dann erwarten, bei einer Aussaat aus einer derartigen Kolonie eine Anzahl rein roter und rein weißer zu bekommen, statt dessen bekommt man wieder eine Reihe ebensolcher Kolonieen in allen Abstufungen — vielleicht einmal dabei einige farblose. Stehen derartige Kolonieen etwas gedrängt, so werden sie vielleicht infolge der als Reiz wirkenden Konkurrenz stärker rot bis fast ganz rot, sind sie sehr gut isoliert, so gewinnen die farblosen Anteile die Oberhand und die gefärbten sind rosa bis blaßrosa statt sattrot. In anderen Fällen, wenn die Platte stellenweise zu dicht besät ist, sieht man hier eine hellorangerote Lackfarbe, an gut isolierten Kolonieen eine dunkle braunrote, oft mit Metallglanz. Die Kolonieen unterscheiden sich hier von den typischen noch dadurch, daß sie nicht die kompakte Struktur und dichte radiäre Streifung dieser aufweisen, sondern durchscheinend, fein chagriniert sind. Ihr Mangel an innerem Gleichgewicht (um es so bildlich auszudrücken) gibt sich aber nicht nur in ihrer Erscheinungsweise, sondern auch in ihrer Nachkommenschaft kund. Impft man von einer stärker roten, so bekommt man wieder rote in verschiedenen Intensitätsabstufungen, ein Teil rosa gesprenkelt und vielleicht ein paar farblose. — Eine farblose ergibt zum

Generated on 2019-09-15 15:19 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Teil farblose, zum Teil rosa gesprenkelte, zum Teil rote Ordenssterne — zur Herausarbeitung eines reinen festen Typus kommt man auch nach einer Reihe von Plattenpassagen nicht, außer wenn man die schwankende Erscheinungsweise als charakteristisch betrachtet.

Die durchscheinenden, farblosen, schleimigen Kolonieen der Originalplatte gaben in 2. Passage einerseits wieder solche farblose, schleimige, kuppelförmige Kolonieen, andererseits ebensolche, aber mit roten bis braunroten, zum Teil metallglänzenden Sektoren. Die isolierte Weiterzucht dieser 2 Abarten in der Weise, daß immer eine typische Kolonie nach 3-tägigem Plattenwachstum zur Besäung der folgenden Passageplatte benutzt wurde, ergab das merkwürdige Resultat, daß die farblosen schleimigen in jeder Passage 2—25 Proz. rote schleimige abspalteten, umgekehrt die roten schleimigen ebensoviel weiße schleimige. Die Annahme, daß 7 Plattenpassagen lang auf beiden Seiten immer wieder gerade Mischkolonieen zur Aussaat gelangten, ist nicht haltbar und so haben wir denn hier ein interessantes Beispiel zweier „beständig umschlagender" Sippen („ever sporting varieties"). Unser Beispiel erinnert an das von de Vries studierte Verhalten der gestreiften Varietät des Löwenmauls Antirrhinum majus luteum rubrostriatum. Diese gärtnerische Varietät bringt neben Individuen mit gelbrot gestreiften Blüten solche mit roten hervor (ca. 20 Proz.). Feinstreifige Pflanzen sind zu etwa 95—98 Proz. erblich, breitstreifige bringen etwa 30 Proz. rote hervor. Die roten (die an die wilde Urform erinnern) bringen 70—85 Proz. rote und 15—30 Proz. gestreifte hervor. Ebenso zeigte die von de Vries und Wildenow untersuchte Mutante Linaria vulgaris peloria eine partielle Erblichkeit von ca. 90 Proz. Wie man sich derartige Vorkommnisse auf dem Boden der Lehre von Erblichkeitseinheiten (Gentheorie) vorstellen soll, ist noch kaum zu sagen. Entweder könnte man sagen, daß hier 2 Abarten vorkommen mit großer Mutationsbereitschaft, die durch unmerkliche und unbekannte Faktoren in einem kleineren oder größeren Prozentsatz von Individuen zur Mutation leicht veranlaßt werden. Oder aber man könnte, dem Beispiel Blaringhems folgend, beide Abarten zu einer einzigen zusammenfassen, deren labiler Anlagenzustand zwei Möglichkeiten von Gleichgewichtslagen bietet, zwischen denen die Sippe vielleicht unter Mitwirkung äußerer Faktoren hin und her pendelt. Beides sind selbstverständlich Bilder, die höchstens beanspruchen können, die Vorgänge zu veranschaulichen, nicht aber sie zu erklären. Die beiden schleimigen Sippen haben mit der vorhin beschriebenen Ordenssternform die Unbeständigkeit des Färbungsfaktors gemeinsam — auch ist die Erscheinungsweise der Färbung ähnlich. Dagegen ist der Faktor der Schleimbildung relativ konstant, auch ist es wichtig, darauf hinzuweisen, daß in unserem Fall auf einem alten Agarröhrchen eine Schleimmutante gefunden wurde (ob hier auch entstanden?), während sie sonst nur in flüssigen Nährböden zu entstehen pflegt. Auch bei Stamm Kiel. N wurde versucht, durch längere Züchtung in flüssigen Nährböden einen größeren Formenkreis herauszubekommen. Die isolierte rote (Ordensstern-)Form erlitt durch 3-wöchentliches Wachstum in Bouillon sowie in alkalischem Peptonwasser (ohne Umzüchtung) keine Veränderung. Die beiden weißen erlitten in der Bouillon ebenfalls keine dauernde Umstimmung — in der 1. Plattenaussaat wuchsen zwar einige Zwergkolonieen, die aber in der nächsten Passage gleich zur Norm zurückschlugen. Bei der Aussaat aus Peptonwasser waren neben den ursprünglichen weißen undurchsichtigen Kolonieen ebensolche durchsichtige (V. hyalina alba) sowie rosafarbene

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:19 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

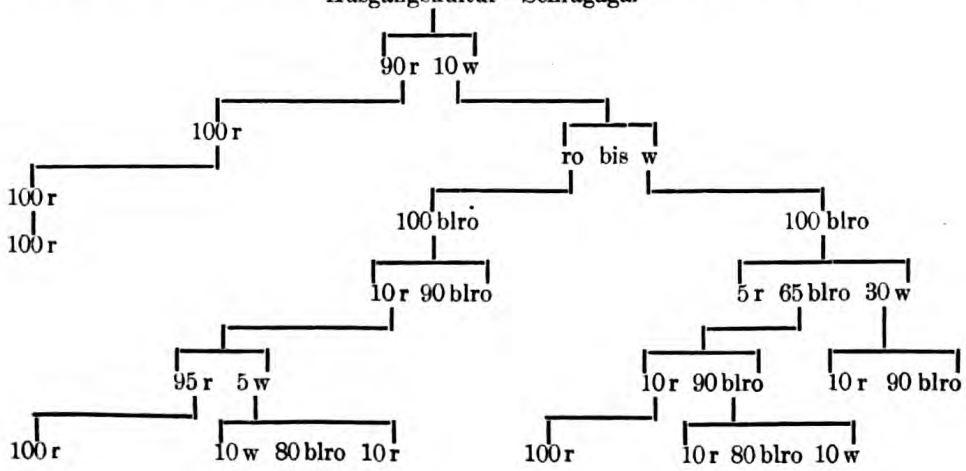
durchsichtige (hyalina rosea) aufgegangen, die sich in 5 Plattenpassagen nicht veränderten.

Beim Stamm Kiel. Br. ergab die Aussaat aus einem 15-tägigen Schrägagarröhrchen zwei Typen: ca. 25 Proz. undurchsichtige, fein radiär gestreifte, orangerote Kolonieen, ca. 75 Proz. durchsichtige, leicht chagrinierte graue Kolonieen mit einem zarten Orange-Schimmer. Der letztere Typus hielt sich innerhalb 7 Plattenpassagen unverändert, der erstere spaltete in der 6. Passage eine einzelne abweichende Kolonie ab, die dann in 8 Plattenpassagen unverändert sich fortzüchten ließ. Dieser Typus zeigt kleine knopfförmig prominente, sehr undurchsichtige, glattrandige, radiär gestreifte, meist farblose Kolonieen, mit mehr oder weniger ausgesprochenem rosa Schimmer (meist an dichteren Stellen). Er erinnert an den sogenannten „dunklen" Kolonietypus der Cholerakulturen, den ich in der zweiten Mitteilung beschrieben und abgebildet habe — ebenso an analoge noch zu beschreibende Kolonieformen bei der Fluorescens-Gruppe (Var. opaca alba).

Wechselvoller war das Bild bei Prod. I. Von einer 1-monatigen Schrägagarkultur wurde ein Plattensatz ausgestrichen. Die Originalplatte zeigte zusammengeflossene Kolonieen von grauroter Farbe, die erste Verdünnungsplatte zeigte 313 typisch rote, 37 farblose Kolonieen, die zweite 50 rote, 1 farblose, auf der dritten und vierten waren nur vereinzelte rote zu sehen. Die Tatsache, daß die Aussaat desselben Materials auf der 1. und 2. Platte ein so verschiedenes Zahlenverhältnis der roten und farblosen Kolonieen ergab, läßt sich wohl nur damit deuten, daß die in ihrer Farbanlage labilen Keime auf der dichter besäten Platte schlechtere Entwickelungsbedingungen vorfanden, während ein Teil davon auf der dünner besäten Platte sich doch noch zur Hervorbringung von rotem Farbstoff heraufraffte. Daß tatsächlich ein derartiger labiler Zustand bei den scheinbar farblosen Kolonieen vorlag, bewies ihre Weiterzüchtung. Während die roten in einer Reihe von Plattenpassagen konstant blieben, ergab die Aussaat von zwei farblosen eine Nachkommenschaft, die in einer Reihe von Passagen zwischen rosa und farblos schwankte und von Zeit zu Zeit konstant rote Anteile in

Tabelle I.

Stammbaum der Aussaaten von Stamm Prod. I: r = rote Kolonie, ro = rosafarbene, w = farblose, blro = blaßrosa, ro bis w = alle Uebergänge zwischen rosa und farblos; die Zahl bedeuten den Prozentsatz des betreffenden Typus in der Aussaat.



Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:19 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

verschiedenem Verhältnis abspaltete. Um dies zu veranschaulichen, habe ich die Ergebnisse der sukzessiven Plattenaussaaten in Form eines Stammbaums zusammengestellt (Tab. I).

Dieses schwankende Verhalten offenbarte sich auch in den Züchtungen in flüssigen Nährböden, und zwar wurden hier 3-tägige Passagen in gewöhnlicher Bouillon, in alkalischem Peptonwasser sowie in Milch bis zur 10. Generation fortgeführt, außerdem eine ebensolche in Bouillon bei 37° C. Solchen Passagen wurde einerseits der Stamm Prod. I en bloc, sowie die isolierten roten, rosa und farblosen Linien unterworfen. Aus fast allen Passageröhrchen wurden Plattenaussaaten gemacht, um den Typenbestand zu kontrollieren. Die rote Linie hielt sich fast konstant. Nur einigemal erschienen in den Aussaaten aus Peptonwasser oder aus der 37°-Bouillon spärliche oder vereinzelte farblose oder rosafarbene Kolonieen vom bereits beschriebenen schwankenden Typus, außerdem eine konstante undurchsichtige blaßrosa Form (rosea 2) und eine konstante durchsichtige rosafarbene (rosea hyalina).

Die Aussaat aus dem 5. Peptonwasser brachte eine Neuigkeit in dieser Linie, inmitten normaler Kolonieen eine einzige sehr kleine, stark prominente von tieferem Rot, die in ihrer Nachkommenschaft immer wieder kleine tiefrote hervorbrachte mit einem Durchmesser von 0,3 bis 1,5 mm gegenüber 3—6 mm bei der Mutterlinie. Wir haben hier also wieder eine Var. nana rubra vor uns, die aber relativ konstant blieb (nur in der 7. Plattenpassage war eine einzige normale rote Kolonie von 4 mm Durchmesser unter einer Mehrzahl kleinerer zu sehen). Diese Abart, ebenso wie die früher erwähnte Var. nana von Prod. A zeigt, wie schwierig die Beurteilung der biologischen Wertigkeit von neuen Abarten werden kann; während man angesichts der gehemmten Entwickelung geneigt sein könnte, von Degeneration resp. Verlustmutation zu sprechen, plädiert wieder die größere Färbungsintensität für eine progressive Mutation. In ähnlicher Weise zeigte die Parva-Mutante des Bac. indicus bei Beijerinck erhöhte Leuchtkraft und wird trotz der Zwergform von diesem Forscher als Gewinnmutante angesprochen. Daß derartige Varietäten auch als vorübergehende Modifikationen erscheinen können, lehrte die Aussaat aus dem 7. Peptonwasserröhrchen — hier wuchs neben normal großen roten eine Anzahl kleiner bis kleinster. Während nun eine davon sich wieder als konstant erwies, gab eine andere in der 1. Passage wieder kleine Kolonieen, in der nächstfolgenden jedoch bereits normal große. Auch in anderen Reihen wurde ein derartiges passageres Auftauchen von Zwergtypen beobachtet.

Aus den Bouillon- und Peptonwasserpassagen der unbeständigen rosafarbenen resp. farblosen Linien von Prod. I wurden neben den ursprünglich hereingebrachten folgende Linien herausgezüchtet: eine konstante durchscheinende rote (wie die Mutterlinie Ordenssternformen), eine durchscheinende farblose beständig umschlagende Linie, in der in jeder Generation 5—20 Proz. durchscheinende rote Ordenssternformen abgespalten wurden (also hyalina und hyalina alba).

II. Mutationen und Modifikationen bei Züchtung auf farbstoffhaltigen Nährböden.

Hatten bereits die Züchtungen auf den gewöhnlichen Nährböden unter Heranziehung einer Reihe von Stämmen eine große Mannigfaltigkeit von Formen ergeben, so wurde weiterhin versucht, dasselbe durch Züchtung auf farbstoffhaltigen Nährböden zu erreichen. Solche experimentelle Mutationen unter Einfluß bekannter chemischer Agentien hat

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:19 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

bereits Wolf in seiner schönen Arbeit erzielt. Hier wurde versucht, die Generationsreihe, die bei Wolf dazu nötig war, abzukürzen und nach Möglichkeit mit einem einzigen starken Schlag das zu erreichen, wozu dort eine Reihe von Passagen mitwirken mußten. In einer ausgedehnten Untersuchung über die Wirkung von Farbstoffen auf Bakterien hatte ich erkannt, daß gramnegative Bakterien widerstandsfähiger sind gegenüber der entwickelungshemmenden Wirkung dieser Desinfizientien, als grampositive. Auch hatte sich gezeigt, daß gerade B. prodigiosum zu den resistentesten nach dieser Richtung gehört, so daß die Anwendung hoher Konzentrationen zulässig erschien. Es wurde meist versucht die Bakterien bei einer Farbstoffkonzentration zu züchten, die möglichst nahe an die absolut hemmende heranreichte — weil gerade dabei eine rasche und energische Beeinflussung erwartet werden konnte. Als solche Konzentrationen erwiesen sich (als Zusätze zu gewöhnlichem Schrägagar): 1—1,5 Proz. Fuchsin, 0,5—1,0 Proz. Kristallviolett, 0,25—1,0 Proz. Safranin, 2 Prom. Chrysoidin u. a.

Die meisten dieser Versuche wurden mit Stamm Prod. II durchgeführt. Derselbe hatte, wie oben berichtet, auf den gewöhnlichen Nährböden nur 2 Varietäten gezeigt, eine normale rote und eine rosafarbene in etwas kleineren Kolonieen wachsende. Zu den Versuchen wurde die isolierte rote in 9 Plattenpassagen als rein befundene Linie verwendet. Sie wurde zunächst auf Agar mit 1 Proz. Fuchsin ausgesät, es wuchs nur eine Anzahl von isolierten Kolonieen (ca. 15) — eine Aussaat aus einer davon nach 6-tägigem Wachstum bei Zimmertemperatur ergab 25 Proz. rote, 75 Proz. rosafarbene, sonst normale Kolonieen, die sich in 7 Plattenpassagen konstant hielten. Von demselben Fuchsinagar wurde nach 16-tägigem Wachstum von einer anderen Kolonie ausgesät — es wuchsen diesmal lauter kleinste bis kleine, sonst normale farblose Kolonieen — die kleinen blieben in 6 Plattenpassagen konstant farblos und klein (2 mm Durchmesser) — die kleinsten ebenso (0,5—1 mm Durchmesser). Daß nicht die Gesamtheit der Kolonieen auf dem ursprünglichen Fuchsinagar in der Umwandlung so weit vorgeschritten war, zeigte eine Aussaat aus einer anderen Kolonie nach 19 Tagen; dieselbe zeigte 2 rote Kolonieen, ca. 40 Proz. rosafarbene und ca. 60 Proz. farblose, und zwar kleine (1,5—3 mm) und kleinste (0,5—1,5 mm Durchmesser) — die rosafarbenen und die kleinen farblosen blieben in 6 Plattenpassagen unverändert — die kleinsten farblosen hielten sich 4 Passagen lang, um in der 5. in die kleinen überzugehen.

Hatte in diesen Fällen eine einzige Passage über den farbstoffhaltigen Nährboden eine Umwandlung der roten Linie in eine rosafarbene resp. farblose bewirkt — also über die Grenze der gewöhnlichen Variationsbreite auf Schrägagar hinaus — so wurde weiterhin versucht, dasselbe in 2—3 Passagen zu erreichen. Es wurde also von dem oben mehrfach erwähnten Fuchsinagarröhrchen nach 10-tägigem Wachstum auf ein zweites ebensolches übertragen und von diesem nach 4 Tagen eine Plattenaussaat gemacht: Es wuchsen rosafarbene Kolonieen von normaler Größe und Undurchsichtigkeit, farblose Kolonieen (wie oben) — und daneben ein neuer Typus durchscheinende kleine rosafarbene (hyalina rosea), die sich weiter als solche fortzüchten ließen. Außerdem wurde die oben nach 6-tägigem Wachstum auf Fuchsinagar aus der Platte wiedergewonnene unveränderte rote Linie wieder 4 Tage lang auf einem frischen Fuchsinagarröhrchen gezüchtet und die Aussaat zeigte dann neben 10 Proz. roten rosafarbene und farblose, die die Weiterzüchtung als konstant erwies. Die scheinbar unveränderten roten

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:19 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

waren also „latent“ doch durch ihre erste Berührung mit dem Farbstoff beeinflußt worden, denn jetzt genügte bereits ein 4-tägiger Kontakt, um die ganze Varietätenskala hervorzubringen.

Interessant war auch die Umwandlung derselben reinen roten Linie bei dreimaliger Fuchsinagarpassage (6 Tage + 11 Tage + 6 Tage). Neben den schon vorhin uns bekannt gewordenen Varietäten — der rosafarbenen und farblosen — war hier auf der Aussaatplatte eine einzige kleinste farblose durchscheinende Kolonie aufgegangen. In weiteren Plattenpassagen gingen hier immer neben einer vorwiegenden Mehrzahl farbloser durchscheinender Zwergkolonieen (V. hyalina alba nana) von 0,5—1 mm Durchmesser seltene blaßrosa durchscheinende Kolonieen von normaler Größe auf (hyalina rosea 2). Wurde von letzteren geimpft, so erzielte man eine konstante Nachkommenschaft, während die ersteren in 6 Passagen immer spalteten. Wir haben also hier ähnlich wie früher aus gewöhnlichen Nährböden eine beständig spaltende Sippe herausgezüchtet.

Es ist ferner auch gelungen, auf 0,25-proz. Safraninagar (19-tägige Züchtung) und 0,2-proz. Chrysoidinagar (15-tägige Züchtung) die Entstehung von rosa und blaßrosa (rosea 1 und 2) sowie von farblosen Mutanten zu erzielen, die sich ebenfalls als beständig erwiesen. Auch 3 Wochen lange Züchtung auf Agar mit 0,25 Proz. Na_2SeO_3 führte zu demselben Resultat.

Beim Stamm Prod. IV, der auf gewöhnlichem Agar keine Abarten abgespaltet hat, wurde durch Züchtung auf 1-proz. Fuchsinagar eine sonst normale rosafarbene Varietät erlangt, die immer wieder 1—10 Proz. rote abspaltete, sowie eine farblose Zwergform (0,5—2 mm Durchmesser), die konstant züchtete (nur in der 6. Plattenpassage wiesen einige weiße Kolonieen nach 7 Tagen einige kleinste rote Pünktchen auf — anscheinend sprungweiser Rückschlag innerhalb der Kolonie). Auf 1-proz. Safraninagar entstand nach 9-tägigem Wachstum eine konstante, sonst normale rosafarbene Mutante, außerdem eine zu Zwergwuchs neigende farblose, die in der 4. und 6. Plattenpassage einzelne rosafarbene resp. rote Kolonieen aufgehen ließ. Auf 2-prom. Chrysoidinagar bekam ich nach halbmonatigem Wachstum eine konstante rosafarbene und eine ebenfalls konstante blaßrosa Varietät (rosea 1 und 2).

Der Stamm Prod. A, der schon auf gewöhnlichen Nährböden eine reiche Mannigfaltigkeit von Formen entwickelt hatte, versagte auch nicht auf farbstoffhaltigem Agar. Ausgesät wurden hier die früher schon beschriebenen, isolierten reinen Linien. Die reine rote Linie gab nach einer Woche auf 1-proz. Kristallviolettagar einige orangerote Kolonieen mit Metallglanz (Aurata-Sippe), die 6 Passagen lang unverändert sich hielten. Eine reichere Ausbeute gaben 2 Passagen über Kristallviolettagar, und zwar 9 Tage auf 1-proz., dann 6 Tage auf 0,5-proz. Auf der Probeaussaatplatte wuchsen hier: 1) in großer Zahl sehr kleine, meist makroskopische, eben sichtbare, punktförmige farblose Kolonieen, die im weiteren Wachstum farblos blieben, aber allmählich etwas größer wurden (1—2 mm Durchmesser), also Var. nana alba; 2) in geringerer Zahl farblose durchscheinende (hyalina alba), in den ersten Generationen etwas gehemmt; 3) eine einzige orangerote mit Metallglanz (aurata s), auch konstant.

Die durchscheinende rote Varietät (hyalina) zeigte nach 3-tägigem Wachstum auf 10-proz. Fuchsinagar neben der Ausgangsform einige ebenfalls durchscheinende, aber tief dunkelrote Kolonieen normaler Größe. Nach 6-tägigem Wachstum auf diesem Agar erreichten diese Spaltlinge

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:19 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

ungefähr die Hälfte aller in der Probeaussaat aufgehenden Keime. In der Weiterzucht spaltete diese Varietät, die ich hyalina purpurea benennen möchte, immer wieder Kolonieen der Ausgangsform (von schwächerer Färbung) in geringer Zahl ab, erwies sich also als beständig rückschlagende Sippe. Auch auf 0,5-proz. Kristallviolettagar wurde nach 6 Tagen diese Varietät erhalten. Außerdem entstand noch auf dem 1,5-proz. Fuchsinagar eine konstante durchscheinende, rosafarbene Varietät (hyalina rosea 1) und eine konstante durchscheinende, farblose (hyalina alba). Auf 1-proz. Safraninagar entstand nach 9 Tagen eine durchscheinende, blaßrosa Varietät (hyalina rosea 2), sowie dieselbe als Zwergform (V. nana hyalina rosea 2).

Die durchscheinende blaßrosafarbene Varietät (hyalina rosea 2) gab nach 4 Tagen auf 1-proz. Fuchsinagar einige kleinste, makroskopisch eben sichtbare, durchscheinende Kolonieen, die 6 Agarpassagen lang konstant blieben, und deren schwacher Rest von Chromogenität sich darin offenbarte, daß im zusammenhängenden Belag ein ganz blasser rosa Hauch zum Vorschein kam, während die Kolonieen farblos blieben (Var. nana hyalina roseo-alba). Aus demselben Ausgangsmaterial wuchs nach 6-tägigem Wachstum auf 1,5-proz. Fuchsinagar eine ähnliche Zwergform, die jedoch immer wieder orangerote Kolonieen mit Metallglanz (aurata — diese konstant) abspaltete.

Aus der durchscheinenden weißen Varietät (hyalina alba) entstand auf 1-proz. Fuchsinagar nach 3 Wochen eine ebensolche Zwergform (V. nana hyalina alba), die 6 Plattenpassagen bestand. Durch Züchtung der früher erwähnten, beständig spaltenden roten Zwergform (V. nana rubra) auf farbstoffhaltigen Nährböden wurde die Hemmung des Wachstums bei derselben stärker akzentuiert, der Typus aber nicht geändert; ebenso erging es der roten Zwergform von Prod. I.

Bei Stamm Kiel. N., mit dem nur wenige Umwandlungsversuche angestellt wurden, ergab die früher beschriebene, durchsichtige weiße Varietät (alba hyalina) nach 6 Tagen auf 1,5-proz. Fuchsinagar neben der Ausgangsform eine undurchsichtige rote Kolonie. Die nächste Plattenaussaat dieser Kolonie zeigte einerseits kleine, stark undurchsichtige, knopfförmig prominente, trocken-bröckelige, stark chagrinierte, amarantrote, andererseits ebensolche rosafarbene; beide Arten in ihrem Gefüge an manche „dunkle“ Kolonieen von Cholera erinnernd. Beide züchteten weiter als „beständig umschlagende Sippen“, so daß in der Aussaat der roten immer einige rosafarbene, in derjenigen der rosafarbenen ständig einige rote zu sehen waren (V. opaca rubra und rosea). Außerdem zeigte in der 4. Plattenpassage der roten eine Kolonie einen ziemlich breiten, durchscheinenden farblosen Auswuchs, der weiter 6 Passagen lang sich unverändert fortzüchten ließ, also ein Rückschlag nach der Ausgangsform (hyalina alba).

Endlich sei noch erwähnt, daß Umwandlungsversuche auf Agar mit schwachen Farbstoffkonzentrationen entweder resultatlos verliefen oder nur sehr bescheidene Erfolge zeitigten.

Von morphologischen Befunden ist bei den verschiedenen Varietäten nicht viel zu berichten. Die festzustellenden Unterschiede waren meist inkonstant und nicht eindeutig — nur die hyalina-Varietäten entwickelten meist etwas schlankere Stäbchen (auch bei Beijerinck). Die Zwergrasse von Prod. I. enthielt neben normalen Stäbchen wenige 2—3mal längere und dickere.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:19 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

III. Der Variationskreis des B. violaceum.

Im Anschluß an die beim B. prodigiosum gemachten Erfahrungen seien hier noch die Versuche mit B. violaceum mitgeteilt, die mit jenen manches Gemeinsame aufweisen. In der Technik war eine kleine Aenderung durch das langsame Wachstum und die noch langdauernde Farbstoffbildung geboten — es wurden deshalb die Agarplatten erst nach 5—8-tägigem Wachstum bei Zimmertemperatur besichtigt und zur Weiterimpfung verwendet. Von einem Museumstamm unserer Sammlung Viol. IV[1]) wurde von einem 96-tägigen Schrägagar auf Agarplatten ausgesät. Es wuchsen nach 6 Tagen einerseits kleine bis mäßiggroße, (1,5—3 mm Durchmesser), runde glattrandige, undeutlich geriffelte, violette Kolonieen, andererseits mehr ausgebreitete (4—8 mm), deutlich geriffelte, etwas blasser gefärbte Kolonieen mit zackigen, mehrfach konturierten Rändern. Diese beiden Varietäten, die wir V. compacta und V. effusa unterscheiden wollen, hielten sich in 9 sukzessiven Plattenpassagen konstant. Die Umwandlung der glattrandigen, die den Normaltypus zu bilden scheinen, in die gezacktrandigen scheint auf festen Nährböden nur langsam, schneller in flüssigen vor sich zu gehen. Bei Aussaat aus $1^1/_2$—2 Monate alten Choleraagar-, Traubenzuckeragar-, Kartoffel- und Loeffler-Serumröhrchen wurden entweder ausschließlich oder fast ausschließlich glattrandige Kolonieen gewonnen, während aus einem ebenso alten, mit dem gleichen Material beimpften Bouillonröhrchen überwiegend gezacktrandige aufgingen.

In der 1. Plattenpassage der gezacktrandigen Kolonieen zeigte eine derselben nach 14 Tagen einige durchscheinende farblose Auswüchse, deren Isolierung eine in 5 Passagen konstante farblose oder blaßviolette Kolonie ebenfalls vom gezacktrandigen Typus ergab (V. effusa pallida). Zu einer völlig farblosen Varietät führte die Aussaat aus einem 8-wöchigen Gelatineröhrchen — es wuchsen hier runde, leicht chagrinierte, durchscheinende, farblose Kolonieen mit leicht gewellten Rändern, daneben weniger zahlreiche, gezacktrandige violette. Die ersteren gaben eine konstante farblose Nachkommenschaft (V. compacta incolor); von den anderen zeigte eine nach 15 Tagen einen durchscheinenden blaßvioletten Auswuchs mit zackigen Rändern (V. effusa pallida), der in der Nachkommenschaft Neigung zur Abspaltung von ebensolchen, aber violetten Kolonieen aufwies, also eine konstant spaltende Varietät. Außerdem wurden aus 2 Monate alten Bouillon- und Peptonwasserröhrchen blauviolette Varietäten der glattrandigen Form herausgezüchtet (V. compacta pallida), die sich unverändert weiterführen ließen.

Nicht unerwähnt mag endlich bleiben, daß ich zu wiederholten Malen auch blaßviolette bis farblose Kolonieen angetroffen habe, die rasch oder allmählich bei der Fortzüchtung zur violetten Normalfarbe zurückkehrten — also passagere Modifikationen, wie sie auch bei anderen Farbstoffbildnern öfters angetroffen werden.

Um diese Ergebnisse kurz zusammenzufassen, haben wir beim B. violaceum zwei variierende Merkmale gefunden, und zwar Struktur der Kolonie und Chromogenität. Die erstere zeigt 2, die letztere 3 Variationsmöglichkeiten. Von den durch Kombination beider Merkmale möglichen 6 Kombinationen sind 5 tatsächlich gefunden worden. Es ist kaum zu bezweifeln, daß ein eingehenderes, mehr vari-

1) Derselbe ist bei Bampton als Breslau IV beschrieben; ich möchte nur bemerken, daß er bei mir auf Kartoffeln einen üppigen schwarzvioletten Belag bildete, während er bei B. wie alle übrigen 17 Stämme ganz versagte.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:19 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

iertes Studium an einer größeren Reihe von Stämmen eine reichhaltigere Sammlung von Varietäten ergeben könnte, besonders wenn man noch andere Merkmale mit heranziehen oder zu energischeren Reizen greifen würde. Interessant ist es, die hier experimentell gewonnenen Varietäten mit denjenigen zu vergleichen, die Bampton in Form einer Reihe von Stämmen aus verschiedenen Laboratorien untersucht hat. Auch er fand darunter schwache Farbstoffbildner und eine ganz farblose Sippe (St. Göttingen) — auch scheinen manche seiner Stämme zur glattrandigen (Hamburg I, II, III), andere zur gezacktrandigen (Bremen, Breslau II, IV, Berlin, Alfeld, Vienenburg, Göttingen) Varietät zu gehören.

IV. Theoretische Besprechung der Resultate.

Um über das bei der Aufzählung vielleicht etwas verwirrende Tatsachenmaterial eine bessere Uebersicht zu verschaffen, habe ich in Tabelle II für jeden Stamm diejenigen Varietäten zusammengestellt, die erstens auf Schrägagar gefunden wurden, sodann solche, die in flüssigen Nährböden entstanden; endlich diejenigen, die aus farbstoffhaltigen Nährböden gezüchtet wurden. In der Nomenklatur hielt ich mich nach Möglichkeit an die von Beijerinck gewählten Bezeichnungen — bei vielen Varietäten, die Beijerinck nicht unterschieden hatte, mußte ich neue Namen schaffen. Um die Sache nicht allzu schwierig zu gestalten, habe ich es vermieden, solche Formen gesondert aufzuführen, die sich nicht in ihrer äußeren Erscheinung, sondern nur durch ihre Abstammung resp. durch ihre Rückschlagstendenzen voneinander unterscheiden (z. B. die verschiedenen Alba-Formen von B.).

Um noch einmal kurz die Unterscheidungsmerkmale der verschiedenen Varianten uns vor Augen zu führen, seien ihre Merkmale gruppenweise aufgezählt (mit einem * die von B. nicht beschriebenen Formen):

I. Gruppe der rubra-Varietäten:
1) rubra: normale, undurchsichtige, rote Kolonieen.
2) hyalina r.: dto. durchscheinende.
*3) hyalina purpurea: normale, durchscheinende schwarzrote.
4) viscosa r.: normale, schleimige rote.
*5) opaca r.: stark undurchsichtige, trocken-bröcklige, amarantrote.
*6) nana r.: rote Zwergkolonieen undurchsichtig.

II. Gruppe der aurata-Varietäten:
7) aurata: durchsichtige orangerote mit Metallglanz.
8) viscosa aurata: dto. schleimig.

III. Gruppe der rosea-Varietäten:
9) rosea 1: normale, undurchsichtige rosafarbene.
*10) rosea 1 hyalina: dto. durchscheinend.
*11) rosea 1 opaca: dto. stark undurchsichtig, trocken-bröcklig.
12) rosea 2: normale blaßrosa, undurchsichtige.
*13) rosea 2 hyalina: dto. durchscheinend.
*14) nana rosea 2 hyalina: dto. Zwergkolonieen.
*15) roseo-albida: normale, undurchsichtige farblose mit rosa Schimmer.
*16) nana hyalina roseo-albida: dto. durchscheinende Zwergkolonieen.

IV. Gruppe der alba-Varietäten:
17) alba: normale, undurchsichtige farblose.
18) alba hyalina: dto. durchscheinend.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:19 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

*19) nana alba hyalina: dto. Zwergkolonieen.
20) viscosa alba: normale, farblose schleimige.
*21) opaca alba: normale, stark undurchsichtige, farblose.
*22) nana alba: farblose, undurchsichtige Zwergkolonieen.

Tabelle II.

Die Tabelle bringt das Verzeichnis der aus verschiedenen Stämmen auf gewöhnlichem Schrägagar, in flüssigen Nährböden sowie auf farbstoffhaltigem Schrägagar entstandenen Varietäten. Dieselben sind in einer Reihe von Plattenpassagen als konstant befunden worden. Bei Varietäten, die eine andere beständig in kleiner Anzahl abspalten, ist diese zweite hinter der spaltenden Varietät eingeklammert angeführt. Paare beständig umschlagender Varietäten sind durch eine } verbunden. Die roseo-albida-Varietäten schwanken beständig zwischen rosa und farblos. Abkürzungen der Varietätenbezeichnungen sind aus der Varietätenliste leicht zu verstehen.

auf	Prod. I	Prod. II	Prod. IV	Prod. A.	Kiel. N.	Kiel. Br.
Schrägagar	rubra roseo-alb. nana rubr.	rubra ros. 2	rubra	rubra alba	aurat. alba visc. aur.} visc. alb.}	aurat. hyal. ros. 2 opac. alb.
flüssigen Nährböden	hyalin. hyal. alb.-(hyal.)			aurat. hyalin. viscos. ros. 1 ros. 2 hyal. ros. 2 hyal. alb. nana rubr.-(hyal.)	hyal. ros. 1 hyal. alba	
farbstoffhaltigem Schrägagar		ros. 1 ros. 2 alba hyal. alba-(hyal. ros. 2)	ros. 1-(rubr.) alba nana alb. ros. 1 ros. 2	aurat. hyal. purp.-(hyal.) hyal. ros. 1 hyal. ros. 2 nana hyal. ros. 2 nana hyal. roseo-alb. nana hyal. roseo-alb.-(aurat.) hyal. alb. nana hyal. alba nana alba	opac. rubr.} opac. ros. 1} hyal. alba	

Die in der Liste aufgeführten Varietäten haben sich bis auf die beständig spaltenden resp. beständig umschlagenden als relativ konstant erwiesen. Nur die als V. roseo-albida bezeichneten zeigten die früher besprochenen starken Schwankungen zwischen farblos und rosa. Freilich ist auch die Konstanz der anderen natürlich nicht absolut zu nehmen — auch sie werden von verschiedenen äußeren Faktoren in ihrer Chromogenität, in dem Gefüge und der Größe ihrer Kolonieen beeinflußt, doch sind diese Schwankungen nicht so ausgesprochen, wie bei jenen.

Wie aus der Liste ersichtlich, sind die Varietäten nach drei verschiedenen Prinzipien eingeteilt worden, und zwar 1) nach ihrer Chromogenität in rote, rosafarbene, blaßrosa, rosa-weißliche, farblose, orangerote, purpurrote; 2) nach dem Gefüge der Kolonieen in normale (undurchsichtige), dunkle (stark undurchsichtige trocken-bröcklige), durchscheinende sowie schleimige: 3) nach ihrer

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:20 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Wachstumsintensität in normale und Zwergformen. Nach dem ersten Merkmal gibt es also 7 mögliche Variationen, nach dem zweiten 4, nach dem dritten 2 — wären alle daraus möglichen Kombinationen verwirklicht, so hätten wir $7 \times 4 \times 2 = 56$ Varietäten. Wir sahen davon in unseren Versuchen 22 verwirklicht — freilich war nach manchen Richtungen die Anzahl der Versuche zu ungenügend, um alle in betreffenden Stämmen schlummernden Möglichkeiten hervorzulocken. Es mag ja vielleicht auf den ersten Anblick kaum glaubhaft erscheinen, daß unter Berücksichtigung so weniger Merkmale eine so große Varietätenreihe voneinander unterschieden werden kann. Ich muß selbst gestehen, daß ich bei der Lektüre der Beijerinckschen Arbeit trotz des Vertrauens, das ich den ausgezeichneten Arbeiten dieses hochverdienten Forschers entgegenbringe, kaum an die von ihm aufgezählten 15 Varietäten recht glauben konnte. Eigene Versuche haben dann eine noch größere Anzahl — 22 — ergeben, darunter nicht weniger als 12 von Beijerinck nicht aufgeführte. Auch möchte ich feststellen, daß ich eher zu wenige als zu viele Varietäten aufgestellt habe — mehr als eine kann mir wegen der vorübergehenden Schwankungen entgangen oder als zu unsicher vorgekommen sein, um besonders unterschieden zu werden.

Auch muß ich Beijerinck durchaus beipflichten, wenn er sagt, die Anzahl der Varietäten würde wahrscheinlich mit der Extensität der Versuche und Aussaaten zunehmen. Von mir aus möchte ich diesem Ausspruch noch hinzufügen, daß die Anzahl der unterscheidbaren Varietäten eine noch viel größere wird, wenn wir den hier berücksichtigten Merkmalgruppen noch andere — vorzugsweise physiologische — anreihen.

Wir wollen jetzt die Entstehungsbedingungen der hier geschilderten Varietäten ins Auge fassen. Wir können uns dabei kurz fassen, da die wichtigsten Tatsachen auf diesem Gebiet bereits von Beijerinck erhoben worden sind. Es kann wohl keinem Zweifel unterliegen, daß hier zwei Hauptfaktoren in Betracht kommen: 1) die Stoffwechselbedingungen — dieses Wort in der weitesten Bedeutung genommen — 2) die idioplasmatisch bedingten Eigentümlichkeiten der Art (Großart) bzw. des Stammes.

Für die Beteiligung der Stoffwechselvorgänge spricht vor allem die von Beijerinck beobachtete und auch von mir bestätigte Tatsache, daß die Ausbeute an Mutanten in flüssigen Nährböden eine bedeutend höhere ist, als auf festen. Freilich nicht ohne Einschränkung. Das gilt nämlich nur, solange es sich um gewöhnliche Nährböden ohne besondere Zusätze handelt. Auf farbstoffhaltigen Schrägagarröhrchen ließ bei einigermaßen ausgedehnten Untersuchungen die Fülle der entstehenden Formen nichts zu wünschen übrig. — Es wäre übrigens möglich, daß durch Züchtung in flüssigen farbstoffhaltigen Nährböden der Ertrag ein noch reicherer geworden wäre. Auch habe ich von Traubenzuckeragar bei Kiel. N zwei schleimige Mutanten herausgezüchtet — doch kann ich hier nicht ganz sicher behaupten, ob sie auch hier entstanden sind, da der Stamm zuvor nicht kontrolliert worden war. Was die einzelnen flüssigen Nährböden anbelangt, so habe ich den Eindruck gewonnen, daß die Milch sich am besten zur Konservierung des Typus eignet — ob durch die durch Fermentation bedingte saure Reaktion? —, daß dagegen das für Cholera alkalisierte Peptonwasser Spaltungen begünstigte.

Daß außer den Stoffwechselvorgängen im engeren Sinne auch Wirkungen des Sauerstoffs, der Temperatur, osmotische Einflüsse mit im

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:20 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Spiele sind, zeigt die erhöhte Häufigkeit von Spaltungen in alternden Kulturen, die auch hier beobachtet wurde. Ganz besonders intensiv ist die Wirkung der Farbstoffzusätze, zumal, wenn man bedenkt, daß sie in unseren Versuchen in einem festen Nährboden zur Anwendung gelangten, und andererseits die kurze Einwirkungszeit einer einzigen Nährbodenpassage, die in manchen Versuchen genügte, um die Umwandlung zu bewirken.

Daß auch innere Ursachen bei den beobachteten Spaltungen von Bedeutung sind, wird man wohl kaum bestreiten können. Dieselben können entweder in den Arteigenschaften (gemeint ist die Großart) oder in Eigentümlichkeiten des betreffenden Stammes begründet sein. Wir sehen, daß bei Angehörigen der Typhus-Coli-Ruhr-Gruppe bei den Vibrionen, bei der Fluorescens-Gruppe Differenzen im Gefüge der Kolonieen vorkommen, wie wir sie zum Teil auch beim Prodigiosum antreffen. Es besteht aber ein prinzipieller Unterschied darin, daß dort die als „hell" bezeichnete durchscheinende Kolonieform die öfters anzutreffende sozusagen die Normalform ist (wenn auch ausnahmsweise auch „dunkle" Formen direkt aus dem infizierten Organismus gezüchtet werden [Baerthlein]), dagegen die als „dunkel" bezeichnete Abart erst unter besonderen Umständen abgespalten wird. Beim Prodigiosum ist als Normalform — als Volltypus eine undurchsichtige Kolonie anzusehen — aus ihr entstehen einerseits eine durchscheinende (hyaline, entspricht den „hellen") — andererseits, aber selten, eine stark undurchsichtige, trocken-bröcklige (wie sie auch bei Cholera und bei der Fluorescens-Gruppe gefunden wurde). Umgekehrt treffen wir bei Angehörigen der Kapselbakterien-Gruppe sowie bei der Sarcina tetragena die schleimige Kolonie als Normalform, die schleimarme als abgespaltene Verlustmutante — bei Prodigosum dagegen repräsentiert die letztere die Normalform, während die erstere nur selten als Gewinnmutante (?) auftritt.

Sprechen diese Befunde dafür, daß in der Konstitution der Art zum Teil die Bahnen vorgezeichnet sind, die ihre Wandlungen einschlagen (s. auch Beijerinck, Nyberg und Schiemann), so scheinen wieder andere Tatsachen auch der Eigenart der Stämme eine Rolle dabei anzuweisen. Die Art wie die Anzahl der Varietäten, die die verschiedenen Stämme im Laufe der Zeit abgespalten haben, sind recht verschieden. Nun mag ja zugegeben werden, daß die Anzahl der Versuche bei den einzelnen Stämmen nicht ganz gleich war, aber auch bei Berücksichtigung dieser Ungleichheit bekommt man den Eindruck, daß verschiedene Stämme verschieden leicht und verschiedene Varietäten abspalten. Ob man imstande sein wird, aus jedem Stamm alle möglichen Varietäten herauszuzüchten, läßt sich zurzeit nicht sagen, doch erscheint dies zweifelhaft. Die berührten Differenzen zwischen den Stämmen sind wohl am wahrscheinlichsten auf ihre früheren Erlebnisse sowohl an ihren natürlichen Standorten, als auch in unseren Laboratoriumskulturen zurückzuführen.

Endlich wollen wir noch der Klassifikation der beschriebenen Varietätenbildung einige Bemerkungen widmen. Beijerinck hat dieselbe als Mutationsvorgang aufgefaßt und beschrieben. Man wird wohl nichts dagegen einzuwenden haben, wenn man mit diesem Namen jede einigermaßen plötzlich auftretende erblich fixierte Umwandlung des Arttypus bezeichnet. Ich habe in den vorhergehenden Mitteilungen auf die begrifflichen und experimentellen Schwierigkeiten hingewiesen, auf die man stößt, wenn man das „sprungweise" Auf-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:20 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

treten einer Mutation bei Bakterien beweisen will. Einerseits entspricht eine Zellgeneration bei Bakterien nicht einer Individualgeneration bei Vielzelligen, andererseits erlauben es die Kulturbedingungen nur in seltenen Fällen, den Vorgang der Umwandlung auf eine einzelne Zellgeneration zu beschränken. Akzeptiert man aber die von mir dort befürwortete Gleichsetzung einer Nährbodenpassage einer Generation bei höheren Lebensformen, so kann tatsächlich das Auftreten der als Mutationen bei Bakterien beschriebenen Vorgänge als sprungweise bezeichnet werden.

Auch für die in der vorigen Mitteilung geäußerte Anschauung, daß zwischen vorübergehenden und erblich fixierten Umwandlungen, also zwischen Modifikation und Mutation, kein durchgreifender Unterschied besteht, haben uns vorliegende Untersuchungen mancherlei Anhaltspunkte ergeben. Wir haben in Aussaaten aus alten Kulturen abweichende Varietäten erhalten können, die einerseits in einer Reihe von Passagen konstant blieben, andererseits solche, die früher oder später meist schrittweise zum Ausgangstypus zurückkehrten, endlich auch solche, die bei der nächsten Passage bereits zurückschlugen. Auch die Erblichkeit der als konstant bezeichneten Sippen ist ja nicht absolut fixiert — wer bürgt uns dafür, daß, wenn wir die Passagen noch länger fortgeführt hätten, der Rückschlag oder eine allmähliche Umkehr ausgeblieben wäre? Wie früher schon bemerkt, wird man ja auch weiterhin die Unterscheidung zwischen Modifikation und Modifikation zu deskriptiven Zwecken — besonders für ausgesprochene Fälle — beibehalten können, mit dem Bewußtsein jedoch, daß hier eine fließende Reihe von Erscheinungen etwas gewaltsam in ein Hüben und Drüben geteilt wird.

Hält man an der oben ausgesprochenen Anschauung fest, daß die Mutationen durch konstitutionelle (genotypische) Eigenschaften der betreffenden Art oder Sippe mitbedingt werden, so wird man doch nicht ohne weiteres dem Ausspruch Beijerincks beipflichten können, daß die Mutation wahrscheinlich nichts phylogenetisch Neues schaffen kann. Die Einschränkungen werden zum Teil durch theoretische Erwägungen, teils durch tatsächliche Befunde geboten. Es ist ja zweifellos zuzugeben, daß im Sinne des biologischen Determinismus äußere Einwirkungen nur solche Reaktionen des lebenden Protoplasmas hervorrufen können, deren Möglichkeit in seiner Konstitution in potentia gegeben ist. Es ist ja der Lebensablauf nichts anderes als die Resultante der inneren Bedingungen eines lebenden Systems und der äußeren darauf wirkenden Kräfte. Wenn wir jedoch danach fragen, ob Mutation etwas Neues schaffen kann, fragen wir ja, ob etwas empirisch Neues, in der Vergangenheit der Art oder der Sippe noch nicht Dagewesenes zum Vorschein kommen kann. Es wird aber niemand behaupten können, daß alle möglichen Faktoren in jeder erdenklichen Intensität und in allen möglichen Kombinationen auf eine Art oder Sippe bereits eingewirkt haben müssen, so daß alle möglichen Beantwortungsarten schon einmal in der Artvergangenheit dagewesen wären. Wirken nun solche nach Qualität, Intensität oder Kombination neuen Reize auf eine Sippe ein, so kann etwas — wenn auch nicht potentiell — aber aktuell Neues entstehen. Von der praktischen Seite her wird man sich aber sagen müssen, daß man bei diesen Untersuchungen ab und zu auf Merkmale stößt, die sich im Formenkreis der betreffenden Großart doch nicht vorfinden — z. B. die erhöhte Farbstoffbildung bei der V. hyalina purpurea und bei der V. nana oder vielleicht die

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:20 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Schleimproduktion bei der Viscosa-Mutante. Wenn Beijerinck hier die Möglichkeit betont, daß vielleicht irgendwelche Vorfahren von B. prodigiosum diese Eigenschaft bereits besessen haben konnten, so läßt sich eben eine solche Annahme zwar nicht ausschließen, aber um so weniger beweisen. Bei dem heutigen Stand unserer Kenntnisse von der Phylogenese der Bakterien, die so ziemlich gleich Null zu setzen sind, wird man wohl bei jeder Form die Vermutung aussprechen können, sie wäre vielleicht unter den Ahnen der betreffenden Sippe zu suchen. Auch Erörterungen über „progressive" und „retrogressive" Mutation kommt aus diesem Grunde nur beschränkter Wert zu. Diese Schwierigkeit wird vielleicht am besten am Beispiel der schon erwähnten schleimigen Varietät von B. prodigiosum illustriert. Beijerinck bespricht die Möglichkeit, daß hier ein Rückschlag auf eine schleimbildende Stammform vorliegt. Nun ist tatsächlich von Fischer seinerzeit eine solche Varietät aus Ozeanwasser als B. plymouthicum gezüchtet und beschrieben worden, doch läßt sich weder hier, noch beim Stamm VIII von Hefferan mit Sicherheit sagen, ob der Stamm bereits bei seiner Isolierung die betreffende Eigenschaft aufwies oder ob sie vielleicht erst im Laboratoriumsleben durch Mutation entstanden ist. Außerdem ist auch aus physiologischen Gründen noch schwer zu sagen, ob Schleimbildung als Erwerb zu betrachten ist, d. h. Produktion eines neuen Stoffes, oder ob sie vielleicht auf degenerative Umwandlungsprozesse der Bakterienmembran zurückzuführen ist. Oft werden ja höchstwahrscheinlich Neuerwerbungen nicht vorkommen — dazu gehören eben außergewöhnliche Reize oder Reizkombinationen — wo sie es tun, werden sie nicht immer zu Neubildungen Verwertung finden können — dazu muß der Reiz, der sie ausgelöst, sich öfters wiederholen — resp. sie müssen besonderen Auslesewert repräsentieren. Daher wird man es verständlich finden, daß wir zumeist auf Varietäten stoßen, die in der Verwandtschaft der betreffenden Sippe auf natürlichem Wege bereits einmal realisiert worden sind — selten solche, die über diese Grenzen hinausgehen.

Von diesem Standpunkt aus können meiner Ansicht nach Versuche mit chemisch definierten Reizen, wie sie in den Arbeiten von Wolf, Schiemann, Seiffert, Altmann und Rauth, Penfold, Revis sowie in meinen Farbstoffversuchen vorliegen, besonderes Interesse beanspruchen. Hier handelt es sich doch gerade um Reize, deren Qualität und zum Teil auch Intensität über die Erlebnisse der Versuchsarten in vielen Fällen hinausreichen dürfte. Durch ihre Summierung mit den mehr gewohnten Reizen, wie sie der Vorgang des Alterns oder Stoffwechselprodukte darstellen, können vielleicht zuweilen neue Merkmale ins Leben gerufen werden und darauf zielt ja das Bestreben der experimentellen Vererbungslehre. In unseren Versuchen haben sich stark wirksame nahe an die entwickelungshemmende heranreichende Konzentrationen in ein- oder mehrmaligen Passagen als erfolgreicher erwiesen, als mäßige oder schwache, jedenfalls haben sie viel schneller Umwandlungen eintreten lassen, als die mäßigen Konzentrationen, die z. B. in den Versuchen von Wolf am Werk waren. Man wäre versucht, hier direkt — in Anlehnung an eine gelungene bildliche Ausdrucksweise von Ehrlich — von einem ictus mutatorius zu sprechen. Als solcher Mutationsschlag wäre z. B. die Einwirkung der Sonnenstrahlen zu betrachten, die bei einmaliger 3-stündiger Anwendung in den Versuchen von Laurent zur Entstehung einer farblosen Mutante geführt hat — ebenso die Erhitzung

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:20 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

der Kulturen auf 56—63° C. Im letzten Versuch ist auch die wichtige Tatsache zu bemerken, daß hier nur eine Zellgeneration dem Reiz ausgesetzt war — freilich kann man auch hier das Entstehen der Mutation von einer Generation zur anderen nicht beweisen.

Schlußsätze.

1) Bei 7 verschiedenen Prodigiosum- und Kieliense-Stämmen wurden bei Züchtung auf gewöhnlichen und farbstoffhaltigen Nährböden 22 verschiedene Mutanten erhalten.

2) Dieselben unterscheiden sich untereinander

a) durch ihre Chromogenität als dunkelrote, rote, orangerote, rosafarbene, blaßrosa, rosaweißliche und farblose;

b) durch das Gefüge ihrer Kolonieen als normal undurchsichtige, stark undurchsichtige (dunkle), durchscheinende und schleimige;

c) durch ihre Wachstumsintensität als normale und Zwergformen.

3) Die Mutanten entstehen in alternden Kulturen, schneller und in größerer Mannigfaltigkeit in flüssigen als auf festen Nährböden. Oft werden auch analoge Modifikationen beobachtet.

4) Als bedingende Faktoren kommen einerseits Stoffwechselvorgänge im weitesten Sinne, andererseits die genotypische Konstitution des betreffenden Stammes in Betracht. Verschiedene Stämme bringen einen nicht ganz identischen Formenkreis hervor.

5) Die Erblichkeit der mutierten Merkmale ist meist eine vollkommene, doch beobachtet man auch Mutantenpaare, die ständig in wechselndem Verhältnis ineinander umschlagen („beständig umschlagende Sippen"), daneben auch Mutanten, die immer wieder eine andere Form abspalten, die dann konstant bleibt („beständig spaltende Sippen").

6) Durch Züchtung auf Agar mit fast entwickelungshemmenden Farbstoffzusätzen wird ein „Mutationsschlag" ausgeübt, der leichter und schneller zur Entstehung einer Mannigfaltigkeit von Mutanten führt, als Züchtung auf gewöhnlichen Nährböden.

7) Bei B. violaceum sind 5 Mutanten gezüchtet worden, die sich durch Chromogenität resp. Struktur der Kolonieen voneinander unterscheiden a) als violette, blaßviolette, farblose, b) als kompakte und ausschwärmende Formen.

V. Mitteilung.

Ueber Mutationen in der Gruppe des Bact. fluorescens, Bact. pneumoniae, bei Sarcina tetragena und bei Bact. typhi.

I. Variabilität in der Fluorescens-Gruppe.

Die Variabilität in dieser Gruppe war bereits Gegenstand zahlreicher Untersuchungen, unter denen ich als die wichtigsten diejenigen von Růžička, Gessard sowie von Lehmann und Neumann nennen möchte. Diese betrafen jedoch meist als vergleichende Untersuchungen

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:20 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

verschiedener Stämme die spontane Variabilität, weniger oft wurde experimentell versucht, das Artbild zu beeinflussen. Von neueren Untersuchungen, die sich zum Teil bereits im Ideenkreis der experimentellen Vererbungslehre bewegen, wären diejenigen von Baerthlein sowie die ausgezeichnete Arbeit von Nyberg zu nennen, dessen Resultate sich mit der von mir bei Cholera beschriebenen sowie mit den hier mitzuteilenden Befunden vielfach decken.

Meine eigenen Untersuchungen wurden an 7 verschiedenen Stämmen ausgeführt — zwei davon sind als Bact. fluorescens liquefaciens, zwei als Bact. fluorescens β non liquefaciens (ich halte in Uebereinstimmung mit Lehmann und Neumann das Bact. putidum nur für eine Varietät von Bact. fluorescens), drei als Bact. pyocyaneum (dessen Artbesonderheit ebenfalls zweifelhaft sein dürfte).

Stamm Fl. Ros. war vor Jahren von Frl. Dr. H. Rozenblat aus verunreinigtem Serum gezüchtet und mir freundlichst überlassen worden. Aus einer 4-wöchigen Bouillonkultur ergab eine Probeaussaat 3 Arten von Kolonieen: 1) Mäßig große, runde glatte, milchig-getrübte, leicht chagrinierte, undeutlich geriffelte Kolonieen ohne Fluoreszenz (ca. 20 Proz.). 2) mäßig große, runde glattrandige, grob chagrinierte, in der Mitte undurchsichtige und leicht geriffelte Kolonieen mit starker Fluoreszenz und ziemlich vielen Phosphatkristallen in Büscheln (nadelförmige, unter dem Mikroskop schwärzliche Formen verschiedener Größe) (ca. 60 Proz.). 3) Kleine (1 mm Durchmesser) undurchsichtige, runde trocken-runzlige, stark chagrinierte und gefaltete Kolonieen mit feiner heller, durchscheinender Randkrause und mehrfach konturierten Randlinien, auch diese mit mehr oder minder zahlreichen Kristallbüscheln und starker Fluoreszenz. Die erste Form verbreitete einen eigentümlich unangenehmen, aromatischen Geruch; die zweite den bekannten Jasmingeruch der Fluoreszens-Gruppe; die dritte denselben mit ammoniakalischer Beimengung. Alle 3 erwiesen sich in 9 sukzessiven Plattenpassagen als konstant. Wir wollen die erste als Var. non fluorescens, die zweite als fluorescens marmorata, die dritte als fluorescens opaca bezeichnet. Mikroskopisch wiesen die beiden letzteren längere Stäbchen auf als die erste.

Einen größeren Formenreichtum bietet die Geschichte des zweiten Fluorescens-Stammes, der in meinen Protokollen als Fluor. L. erscheint. Derselbe ging auf einer unbeimpften Agarplatte als Luftvereinigung in Form einer einzigen großen (1 cm Durchmesser), schleimig kuppelförmigen, stark fluoreszierenden Kolonie auf. Dieselbe wurde auf einen Schrägagar überimpft und von diesem nach 7-wöchigem Wachstum eine Plattenaussaat gemacht. Dieselbe zeigte 3 Arten von Kolonieen, und zwar: 1) Große (5—12 mm Durchmesser), runde, schleimig kuppelförmige, glattrandige, halb durchscheinende Kolonieen, die bei mikroskopischer Betrachtung eine gleichförmige kleinkörnige, dichte Granulation bis fast an den Rand aufweisen, mit starker Fluoreszenz. Beim Altern schrumpfen die Kolonieen und trocknen zusammen — ihre kuppelförmige Erhabenheit schwindet — nur an den Rändern bleiben erhabenere, weißlich undurchsichtige Wälle, während die Mitte ganz abgeflacht und unscheinbar geworden ist. Oft konfluieren zwei benachbarte Kolonieen zu nierenförmigen Gebilden (Var. fluorescens hyalina viscosa). 2) Während der 1. Typus das Bild der Aussaat beherrschte, waren Kolonieen vom 2. Typus nur in geringer Anzahl vorhanden. Dieselben sind klein (1,5 bis 3 mm Durchmesser), flach scheibenförmig, durchscheinend homogen,

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:23 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

glattrandig (typhus- oder cholera-ähnlich) mit starker Fluoreszenz (Var. fluorescens hyalina). 3) Der 3. Typus in der ganzen Aussaat nur durch eine einzelne Kolonie repräsentiert, zeigt flach kuppelförmige, kleine bis mäßiggroße (2—4 mm Durchmesser) Kolonieen von schleimigem Aussehen (nicht so gallertig wie der 1. Typus, sondern mehr kompakt), mit dichter homogener Granulation, die jedoch nur bis zu einem Drittel oder zur Hälfte des Durchmessers reicht, während ein breiter peripherer Ring frei davon bleibt. Makroskopisch erscheint daher das Zentrum undurchsichtig, die Peripherie durchscheinend glasig — man erhält also das Bild einer Ringform — Var. fluorescens semiviscosa sigillaris.

Die 3 Typen erwiesen sich in Plattenpassagen als konstant — nur mußte die Züchtung bei Zimmertemperatur erfolgen. Züchtete man bei 37° C, so erfolgte wohl Wachstum, doch war erstens die Fluoreszenz bei allen 3 Typen kaum angedeutet; zweitens war die Schleimbildung beim 1. und 3. ganz unterdrückt. Wurden solche Kulturen nach 2-tägigem Wachstum bei 37° C in Zimmertemperatur gebracht, so erfolgte an den Rändern der flach gewachsenen Kolonieen üppige Schleimwallbildung, die allmählich die ganze Kolonie überbrückte und in eine schleimige Kuppel verwandelte. Beim Altern von Bouillon- oder Agarkulturen des schleimigen und des Siegelringtypus wurden flache Kolonieen in größerer oder geringerer Zahl abgespalten; das Umgekehrte habe ich nicht beobachtet.

Aus Bouillonkulturen der schleimigen Varietät wurden ferner (nach 19- resp. 48-tägigem Wachstum) noch weitere 2 schleimige Varietäten herausgezüchtet, und zwar: 1) Mäßig große (4—6 mm Durchmesser, also kleiner als die Ausgangsform), milchig-trübe, runde kuppelförmig-schleimige, fast bis an den Rand granulierte Kolonieen mit starker Fluoreszenz (Var. fluorescens compacta viscosa). Die Konsistenz ihres Schleimes war fester und sie zeigten auch nach einer Woche keine Abflachung. 2) Mäßig große bis große, durchscheinende glattrandige, flach kuppelförmige, schleimige Kolonieen, bis fast an den Rand granuliert, ohne Fluoreszenz (Var. hyalina viscosa non fluorescens). Die 1. Varietät wurde in 11, die 2. in 7 Plattenpassagen als konstant befunden. Außerdem wurde aus einer 1-monatigen Bouillonkultur derselben Varietät noch eine 3., nicht schleimige Varietät herausgezüchtet. 3) Kleine runde, glattrandige, weißlich undurchsichtige, knopfförmig prominente Kolonieen, mikroskopisch gelbbraun, dunkel granuliert, in der Mitte nach einigen Tagen nabelförmig eingezogen und gefaltet, mit starker Fluoreszenz (Var. fluorescens opaca).

Auch die flache, durchscheinende Varietät spaltete bei der Weiterzüchtung neue Formen ab. Während die anderen Formen Gelatine verflüssigten und Milch koagulierten, ließ diese beide Eigenschaften auch bei längerer Beobachtung vermissen. Aus einer 5-wöchigen Agarkultur wurde jedoch eine Kolonieform neben der ursprünglichen herausgezüchtet, die sich morphologisch von derselben nicht unterscheiden ließ, die jedoch Gelatine verflüssigte. Wir haben also eine Spaltung der Varietät in eine Var. fluorescens hyalina liquefaciens und nonliquefaciens. Außerdem wurde aus 18-tägiger Bouillonkultur eine Varietät gezüchtet, die mittelgroße flache, glattrandige, undurchsichtig geriffelte Kolonieen mit starker Fluoreszenz aufwies (Var. fluorescens semiopaca), die 11 Plattenpassagen hindurch konstant blieb. Im mikroskopischen Bild zeichnete sich diese letztere dadurch aus, daß die Stäbchen zu langen verschlungenen Ketten angeordnet waren, während sie bei anderen Varietäten gut isoliert blieben (mit Schleimfetzen bei den schleimigen).

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:23 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Bei Stamm Fluor. nonliquefaciens I (alter Museumstamm) wurden aus einer 8-wöchigen Agarkultur folgende 3 Varietäten herausgezüchtet und in 8 Rattenpassagen konstant befunden: 1) mäßiggroße flache, runde glattrandige, durchscheinende, leicht geriffelte Kolonieen mit Fluoreszenz (Var. hyalina); 2) ebensolche, halb durchscheinende, leicht chagrinierte, nicht geriffelte, mit Fluoreszenz (Var. semiopaca 1); 3) ebensolche, etwas mehr prominente, wenig durchscheinende Kolonieen mit flach gekerbten Rändern, bestehend aus stark geriffelten, verflochtenen Lockenzügen mit Fluoreszenz (Var. semiopaca 2). Stamm Fluor. nonliquefaciens III (ebenfalls alter Museumstamm) gab bei Aussaat aus einer 8-wöchigen Agarkultur folgende 3 Varietäten: 1) kleine flache, runde durchscheinende, fein chagrinierte Kolonieen mit Fluoreszenz (Var. hyalina); 2) ebensolche, trübe, stark geriffelte Kolonieen mit Fluoreszenz (Var. semiopaca 1); 3) sehr kleine (1 mm Durchmesser), runde, knopfförmig erhabene, steilrandige, trockene, undurchsichtige Kolonieen mit Fluoreszenz, mikroskopisch gelbbraun, grobfaserig mit radiärer Streifung und zentraler Vertiefung, zuweilen mit schmalem, hellem, flachem Saum (Var. opaca). Alle 3 Typen blieben in 8 Plattenpassagen unverändert. In der 3. Passage des dunklen Typus wiesen einige Kolonieen durchsichtige flache Auswüchse auf, doch ergab isolierte Aussaat aus diesen wieder eine Reinzucht von typischen dunklen Kolonieen. Es war also kein makroskopisch sich kundgebender Rückschlag erfolgt, wie wir dies in ähnlicher Form z. B. bei Prodigiosum beobachten konnten.

Von Stämmen, die im gewöhnlichen bakteriologischen Sprachgebrauch zum Pyocyaneum gerechnet werden, wurde zunächst der Stamm Pyoc. Z herangezogen. Es war ein alter Museumstamm aus dem Krakauer Hygienischen Institut (mindestens 12 Jahre alt), der früher einmal typisch gewesen war, jetzt aber unter gewöhnlichen Züchtungsbedingungen kein Pyocyanin mehr bildete (wohl aber in 0,2-proz. Kaliumnitritbouillon). Auch die von ihm produzierte Fluoreszenz ließ, obzwar noch bemerkbar, viel zu wünschen übrig. Aus einer 315-tägigen Bouillonkultur wurden folgende 3 Varietäten isoliert: 1) große, flach sich ausbreitende, durchscheinende, leicht chagrinierte und geriffelte Kolonieen mit unregelmäßig gezackten, mehrfach konturierten Rändern, zum Teil mit verschieden dicken, verästelten Ausläufern (Var. hyalina effusa incolor); 2) kleine runde, glattrandige, leicht chagrinierte, durchscheinende Kolonieen (Var. hyalina compacta incolor); 3) sehr kleine, runde, knopfförmige, kaum durchscheinende, stark chagrinierte Kolonieen mit etwas gewellten und leicht gefalteten Rändern (Var. semiopaca 2 incolor). Alle 3 Varietäten wurden 10 Plattenpassagen lang unverändert fortgezüchtet.

Aus der 3. Varietät entstanden auf einer Agarglatte, die bei 37° C statt bei Zimmertemperatur bebrütet wurde, 2 weitere Varietäten, und zwar: 4) schleimig kuppelförmige, mittelgroße runde, glattrandige, mikroskopisch bis an den Rand gleichmäßig granulierte, undurchsichtige Kolonieen (Var. semiopaca 2 viscosa incolor) und 5) kleine bis mäßiggroße, runde glattrandige, flach gewölbte, kaum durchscheinende Kolonieen mit undurchsichtigem Zentrum, das mikroskopisch ziemlich zahlreiche, sekundäre Tiefenkolonieen enthielt (Siegelringform) (Var. semiopaca 2 sigillaris incolor). Beide Varietäten konnten in 6 Plattenpassagen unverändert weitergeführt werden.

Ein anderer Stamm Pyoc. W. war vor ca. 3 Jahren aus dem Weichselwasser gezüchtet worden und mäßiger Pyocyaninbildner. Aus einem 50-tägigen Schrägagarröhrchen wurden folgende zwei Varietäten

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:24 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

isoliert: 1) mäßig große, rundliche flache, durchscheinende, fein chagrinierte Kolonieen mit mehrfach konturiertem, gezacktem und gelochtem Rand und zahlreichen Phosphatkristallen in Büscheln (Var. hyalina). An älteren Kolonieen bedingt die Anhäufung der Kristallbüschel eigentümliche trockene, metallartig schillernde Plaques. 2) kleine (0,5—1 mm Durchmesser), runde, knopfförmige, trockene, undurchsichtige, stark chagrinierte Kolonieen mit nabelförmiger Einziehung in der Mitte und einer schmalen, durchsichtigen, flachen Randkrause, zum Teil stark gewulstet — Kristallbüschel erscheinen später (Var. opaca). Nach einigen Tagen wachsen aus der Randkrause hie und da breite helle, durchsichtige Auswüchse, die bei Weiterimpfung sich als Rückschläge zur hellen Form erweisen — wir haben hier also eine beständig spaltende Varietät vor uns.

Aus einer 4-wöchigen Bouillonkultur desselben Stammes wurden außer den schon genannten noch zwei weitere Varietäten gezüchtet: 3) kleine bis mäßig große (2—4 mm Durchmesser, also größer als Var. opaca), runde, trübe, grob chagrinierte Kolonieen mit nabelförmig vertiefter Mitte, von der dunklen Varietät gut unterscheidbar (Var. subopaca), und 4) mittelgroße, trockene, flache, stark chagrinierte Scheiben, zum Teil mit abgesetztem, dünnem, geriffeltem Randsaum mit dichter Granulation von sekundären Tiefenkolonieen bis fast an den Rand (Var. granulata), alle 4 Varietäten bildeten Fluorescin und Pyocyanin — alle erwiesen sich mit der schon beschriebenen Ausnahme in 9 resp. 5 Plattenpassagen als konstant. Mikroskopisch wiesen die dunkle und halbdunkle Varietät 2—3mal längere Stäbchen auf, als die anderen.

Der dritte Pyocyaneum-Stamm Pyoc. R. war von mir vor etwa 5 Jahren aus einem Phlegmoneneiter gezüchtet worden und entsprach dem Idealtypus dieser Art. Aus einer 315-tägigen Bouillonkultur wurden folgende zwei Varietäten isoliert: 1) scheibchenförmige Kolonieen mit höherem, chagriniertem, weniger durchscheinendem Zentralplatteau, und flacher durchscheinender, leicht gewellter und stark gefältelter Randpartie, mit vielen Phosphatbüscheln und dadurch bedingtem Metallglanz, mit starker Pyocyanin- und Fluorescinbildung (Var. viridis); 2) ebensolche Kolonieen ohne Phosphatbüschel und ohne metallglänzende Plaques, ohne Pyocyaninbildung, mit schwacher bis mäßiger Fluorescinbildung (Var. incolor). Beide Varietäten wurden durch 10 Plattenpassagen fortgeführt — sie schlugen oft in einer kleinen Anzahl von Individuen ineinander über. Aus der zweiten Varietät wurde aus einer 46-tägigen 1-proz. Kaliumnitratbouillon neben der ersten Varietät eine dritte gezüchtet, und zwar 3) kleine, runde, knopfförmige, trockene, kaum durchscheinende, gewulstete Kolonieen mit vielen bläschenförmigen sekundären Tiefenkolonieen und wenigen Phosphatbüscheln ohne Pyocyaninbildung mit mäßiger Fluoreszenz (Var. opaca incolor). Im allgemeinen sei bemerkt, daß gerade bei diesem Stamm die Varietäten gegeneinander nicht absolut scharf getrennt waren, sondern von Generation zu Generation wohl unter Mitwirkung von wechselnden kleinen Nebenfaktoren bezüglich der Intensität Pyocyanin- und Kristallbildung etwas schwankten.

In Ergänzung der Angaben über die Fluorescens-Gruppe möchte ich hinzufügen, daß außer den berührten Differenzen bezüglich der Pyocyaninbildung (am besten ausgeprägt in 0,2-proz. KNO_2-Bouillon-Chloroformextraktion) auch solche betreffs der Reduktion von Nitraten und Nitriten festgestellt werden konnten. Alle drei Pyocyaneum-Stämme zeigten in allen Varietäten Nitrat- und Nitritreduktion, während

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:23 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

die eigentlichen Fluorescens-Stämme versagten (verwendet wurde 1-proz. KNO_3- und 0,2-proz. KNO_2-Bouillon im Durham-Röhrchen). Auch wenn diese Differenzen (ebenso wie die Hämolyse in Blutagar) ganz konstant bei allen Pyocyaneum- und Fluorescens-Stämmen zu finden wären, würden sie höchstens zu einer Abgrenzung von Kleinarten (etwa wie in der Ruhrgruppe) berechtigen.

II. Variabilität bei Kapselbildnern.

Die Variabilität in dieser Gruppe war bereits vor längerer Zeit Gegenstand ausgezeichneter Untersuchungen, die Wilde unter Kruses Leitung ausgeführt hat, in letzter Zeit hat Toeniessen darüber interessante Mitteilungen gemacht, die sich mit meinen unabhängig davon gewonnenen Befunden in vielen Punkten decken.

Meine Untersuchungen betrafen 6 Stämme, die in die engere Sippe des Rhinoscleroms gehören, und 5 Stämme aus der Friedländer-Sippe. Merkliche Unterschiede in bezug auf die uns interessierenden Merkmale haben sich zwischen beiden Sippen nicht ergeben.

Bei Stamm Rhin. I und III ergab die Aussaat aus 11-wöchigen Schrägagarkulturen lauter mittelgroße, flache, durchscheinende Coli-artige Kolonieen, die nicht weiter verfolgt wurden. Umgekehrt wurden bei Stamm Rhin. Z. lauter große, schleimige Kolonieen gefunden, und zwar in zwei Varietäten — nämlich ganz durchscheinende und milchig trübe (Var. viscosa hyalina und viscosa opaca). Aehnliches haben Baerthlein und Gildemeister beobachtet.

Bei Stamm Rhin. II und IV ergab dieselbe Aussaat übereinstimmenderweise einerseits flach kuppelförmig schleimige, runde, glattrandige, grau durchscheinende, gleichmäßig bis an den Rand granulierte große Kolonieen (Var. viscosa) — daneben in geringerer Zahl kleine, runde, flache, durchscheinende Kolonieen (Var. nuda). Die letztere war bei den 2 Stämmen nicht ganz identisch, bei dem ersten waren es Siegelringformen mit dunklerem Zentrum und durchscheinender Peripherie (Var. nuda sigillaris), beim zweiten Kolonieen mit hellem Zentrum und stark chagrinierter, ringförmiger Randpartie. Bei beiden Stämmen wurden beide Varietäten in 10 Plattenpassagen unverändert fortgeführt, nur in der 9. Passage der flachen Varietät von Rhin. II erschienen neben einer Mehrzahl von flachen Kolonieen einige schleimige. Die Unterschiede im Aufbau der Kolonieen der beiden Typen waren auch auf Endo-, Omelianski- und Ascitesagar gut ausgeprägt, ebenso auf Gelatineplatten. Im Erhitzungsversuch erwiesen sich bei beiden Stämmen übereinstimmenderweise beide Varietäten gleich hitzeempfindlich, indem sie wohl 15 Minuten langes Erhitzen auf 50° C vertrugen, bei halbstündigem aber abgetötet waren.

Versuche in flüssigen Nährböden werfen ein gewisses Licht auf die Frage der Entstehung der Varietäten auseinander. Bei 1-monatiger Züchtung in Bouillon blieben die beiden flachen Varietäten unverändert, ebenso die flache Varietät von Rhin. IV bei Züchtung in stark alkalischem Peptonwasser. Dagegen gingen bei einer Aussaat aus einer solchen 1-monatigen Peptonwasserkultur der flachen Varietät von Rhin. II neben einer Mehrzahl von flachen Kolonieen einige schleimige auf. Anders verhalten sich die schleimigen Varietäten; aus älteren Bouillonkulturen wurden hier überwiegend flache Kolonieen gezüchtet, der Ausgangstypus war nur bescheiden oder spärlich vertreten. Im Peptonwasser dagegen erhielt sich der schleimige Typus sehr gut, bei beiden Stämmen war nur je eine einzige flache Kolonie zu sehen. Es spricht dies dafür, daß die

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:24 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Säuerung der Bouillon in älteren Kulturen die schleimige Varietät zum Umschlag in die flache disponiert, daß die alkalische Reaktion des Peptonwassers ihm entgegenwirkt; umgekehrt scheint die letztere den Rückschlag der flachen in die schleimige zu begünstigen.

Die Mäuseversuche, die mit den beiden Varietäten von Stamm Rhin. IV angestellt wurden, waren zu wenig zahlreich, um definitive Schlüsse daraus zu ziehen, deutliche Virulenzunterschiede sind dabei nicht festgestellt worden.

Aehnlich wie diese beiden Stämme verhielt sich Stamm Rhin. I B Kr., der aber nicht eingehender untersucht wurde.

Von den zur Friedländer-Sippe gehörigen Stämmen zeigten die Stämme Fr. Polner und Fr. C. lauter schleimige, Fr. Br. Kl. und Fr. Chir. Kl. lauter flache Kolonieen. Der Stamm Fr. Di. zeigte unmittelbar nach seiner Herauszüchtung aus Rachenschleim bei Diphtherie lauter schleimige Kolonieen. Bei Züchtung in Peptonwasser hielt sich die Varietät rein schleimig auch nach 1 Monat bei 37° C — dagegen waren in Bouillon schon nach 4-tägigem Wachstum bei 37° C einige flache Kolonieen entstanden. — Damit erhalten die Befunde bei den Rhinoskleromstämmen eine neue Bestätigung.

Es ist sehr interessant festzustellen, daß bereits Wilde durch sehr eingehende und auch im Sinne unserer erweiterten Kenntnisse einwandsfreie Untersuchungen die Existenz der zwei Hauptvarietäten festgestellt hat. Aus seiner Beobachtung, daß die flache („atypische" nach Wilde) Varietät am schnellsten in gesäuerter Milch entsteht, stimmt mit unserer Vermutung über die Wirkung der sauren Reaktion gut überein. Beham hat kürzlich gezeigt, daß aus alten Agarkulturen von Kapselbildnern kapsellose Varietäten gezüchtet werden können, sowie umgekehrt, auch hat er den wichtigen Nachweis geführt, daß die kapselfreie Varietät gut agglutinabel ist, während die bekapselte bekanntlich sich nur äußerst schwer agglutinieren läßt. Endlich hat Toeniessen eine andere sehr interessante Eigentümlichkeit der kapselfreien Varietät beobachtet, sie war nämlich bei seinem Stamm ganz avirulent, während die bekapselte über eine sehr hohe Virulenz verfügte. Auf die theoretische Bedeutung dieses Befundes soll noch weiter unten eingegangen werden.

III. Variabilität der Sarcina tetragena.

Im Anschluß an die Gruppe der Kapselbakterien möge hier eine Reihe von Versuchen mit einem anderen Kapselbildner der Sarcina tetragena ihren Platz finden. Aus einer 40-tägigen Schrägagarkultur des Stammes Tetr. II wurden in Plattenaussaat einerseits mäßig große (2—6 mm Durchmesser), runde, glattrandige, kuppelförmig schleimige, halb durchscheinende Kolonieen (Var. viscosa), andererseits kleinere (0,5—2,5 mm Durchmesser), weniger prominente, runde, glattrandige, porzellanweiße, undurchsichtige (Var. nuda) zu etwa gleichen Teilen herausgezüchtet. Beide Varietäten wurden in je 7 Plattenpassagen unverändert weitergezüchtet, nur in der 7. Passage der schleimigen Varietät wurden ca. 30 Proz. der flachen Kolonieen gefunden. Auf Ascitesagar war der Unterschied beider Varietäten gut ausgesprochen, wenig dagegen auf Gelatineplatten. Bei 1-monatiger Züchtung in Bouillon und stark alkalischem Peptonwasser bei 37° C blieb die flache Varietät unverändert; die schleimige hatte sich in Bouillon ganz in die flache umgewandelt, die Aussaat aus dem 1-monatigen Peptonwasser ergab 20 Proz. schleimige, 80 Proz. flache Kolonieen. Auch hier also war, wie bei den Kapsel-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:23 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

bakterien, das Peptonwasser für die Erhaltung der schleimigen Varietäten günstiger gewesen, als die Bouillon.

Morphologisch unterschieden sich die beiden Varietäten darin, daß die Tetraden und Pakete der schleimigen Varietät mehr oder weniger ausgeprägte Kapseln aufwiesen, die sich im Tusche- und besonders schön im Cyanochinbild darstellen ließen. Bei der flachen Varietät waren Kapseln nur selten und dann in rudimentärem Zustand zu sehen.

Nicht minder interessant waren die biologischen Differenzen. Zunächst zeigte der Erhitzungsversuch, daß, während eine Bouillonkultur der flachen Varietät nach halbstündiger Erhitzung auf 55° C sich als abgetötet erwies, die schleimige Varietät dabei am Leben blieb und erst einer dreiviertelstündigen erlag. Wichtiger noch war das Verhalten im Tierversuch. Es zeigte sich nämlich zunächst bei Mäusen, daß intraperitoneale Infektion mit $^1/_{20}$, $^1/_5$, $^1/_2$ und 1 Oese jungen Agarmaterials der flachen Varietät die Mäuse am Leben ließ — nur bei den hohen Dosen waren in den ersten Stunden ausgesprochene Erscheinungen von Peritonealreizung zu bemerken, wie nicht anders zu erwarten stand. Demgegenüber ging die mit $^1/_5$ Oese der schleimigen Varietät infizierte Maus nach 46, die mit $^1/_{20}$ Oese nach 30 resp. 36 Stunden, die mit $^1/_{50}$ Oese nach 28 Stunden ein, und bei allen konnten aus Blut und Peritonealexsudat (stark schleimig) üppige, schleimige Tetragena-Kulturen gewonnen werden. Aehnlich verliefen die Infektionsversuche bei Meerschweinchen. Die mit $^1/_5$ und 1 Oese der flachen Varietät intraperitoneal infizierten Tiere blieben am Leben, das mit $^1/_5$ Oese der schleimigen Varietät infizierte ging in 105, das mit einer ganzen Oese in weniger als 30 Stunden zugrunde. Bei beiden wurden aus Herzblut und Peritonealexsudat Kulturen der schleimigen Varietät gezüchtet.

Ganz kurz sei noch erwähnt, daß ich bei einem grampositiven der Diphtheriegruppe angehörigen saprophytischen Stäbchen, das auf Agar bei Zimmertemperatur langsam in großen, undurchsichtigen, lachsfarbenen Kolonieen wächst (wie es scheint, noch nicht beschrieben — wir wollen es vorläufig Corynebacterium salmonicolor nennen), ebenfalls eine schleimige und flache Varietät isolieren konnte, die durch eine Reihe von Plattenpassagen konstant weitergezüchtet wurden.

IV. Ueber einen Stamm von B. typhi mutabile.

Dieser Teil meiner Untersuchungen bezieht sich nur auf einen Typhusstamm und seine Spaltlinge. Derselbe wurde am 16. März 1912 aus dem Blute eines typhuskranken Jungen gezüchtet, der nebenbei an Endocarditis chronica recurrens litt. Das Blut wurde in der üblichen Weise in 3 Galleröhrchen nach Conradi (ohne Peptonzusatz), in 5 Peptonzuckerwasserröhrchen nach Wiens und in ein Kölbchen mit 200 ccm Bouillon nach Castellani eingeführt. Ueberall gingen Typhusbakterien in Reinkultur auf, die in der üblichen Weise identifiziert wurden und zu jener Zeit nichts Abnormes boten. In einem Peptonzuckerwasserröhrchen waren außerdem noch Streptokokken gewachsen, die uns hier nicht weiter beschäftigen sollen. Der Bouillonkolben sowie die Röhrchen wurden nach 3-tägiger Bebrütung bei Zimmertemperatur stehen gelassen und kamen dann bei meiner Uebersiedelung mit nach Breslau.

Am 11. Dez. 1912, also nach ca. 9 Monaten, wurde der Bodensatz der Blutbouillon auf Platten ausgestrichen. Nach 3-tägiger Bebrütung bei 37° C zeigten dieselben neben wenigen Kolonieen von Luftkokken ziemlich große (4—6 mm Durchmesser), coliartige, granulierte, mäßig durchscheinende Kolonieen mit Weinblattzeichnung und nabelförmiger

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:23 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Einziehung, außerdem ebensolche ohne Nabel. Nach weiterer 3-tägiger Aufbewahrung bei Zimmertemperatur sind auf den Platten noch kleine (1—2 mm Durchmesser), granulierte, in der Mitte unregelmäßig geriffelte, weniger durchscheinende Kolonieen mit durchsichtigen, leicht gebuchteten Rändern aufgeschossen. Die beiden erstgenannten Kolonieenarten gaben bei Weiterzüchtung ebensolche Kolonieen ohne Nabel. Ein ganz absonderliches Verhalten zeigten dagegen die Abkömmlinge der 3. Kolonieart. Wurde von einer derartigen kleinen Kolonie auf eine Agarplatte ausgestrichen, so waren nach 1 Tage nur einige spärliche Kolonieen gewachsen, die nach 3 Tagen zu mäßig großen (2 mm Durchmesser) Kolonieen heranwuchsen mit undurchsichtigem, stark granuliertem Zentrum und durchscheinender, geriffelter Peripherie. Daneben erschienen am 2. Tage kleinste, punktförmige, grau durchscheinende, zahlreiche Kolonieen, die nach 3 Tagen 0,5—1 mm Durchmesser nicht überschritten, gebuchtete Ränder und Weinblattzeichnung aufwiesen. Wurde von einer solchen Kolonie weitergeimpft, so wiederholte sich das gemischte Bild von neuem, wurde von einer größeren gezüchtet, so bekam man lauter größere Kolonieen desselben Typus. Wir haben hier also wieder eine beständig spaltende Sippe vor uns, wo ein in seinem Wachstum gehemmter Zwergtypus immer wieder normal wachsende Individuen abspaltet.

Es war nun vor allem die Frage, ob die beschriebenen Formen, die aus der Blutbouillon herausgezüchtet wurden, wirklich Abkömmlinge des Stammes Ty. Spatz — so hieß der Patient — waren, ob hier nicht etwa fremde Eindringlinge vorlagen. Um darüber Klarheit zu erlangen, wurden die zwei erstgenannten Kolonieformen ebenso wie die Zwergform auf ihre kulturellen und biochemischen Merkmale untersucht, die hier kurz zusammengestellt sein sollen (Tabelle I).

Wie wir sehen, stimmen die Merkmale ziemlich gut zur Typusdiagnose — es fällt nur vielleicht die träge und unvollständige Vergärung von Mannit bei allen 3 Varietäten sowie der Verlauf der Maltosevergärung auf — doch möchte ich auf diese Eigentümlichkeiten angesichts der leichten Beeinflußbarkeit mancher Zuckerspaltungen (Penfold, Twort, Revis, Walker) kein allzu großes Gewicht legen. Im mikroskopischen Bild zeigten sich gewisse Eigentümlichkeiten insofern, als das Präparat von der glatten Kolonie neben typischen Kurzstäbchen hier und da kurze Fäden von 10—15 μ aufwies; dasjenige von der genabelten Form normale Typhusstäbchen. Im Bild der Zwergform waren neben längeren Stäbchenformen viele lange (10 – 70 μ), gewundene, gegliederte oder ungegliederte Fäden zu sehen, während die Rückschlagsform nur Kurzstäbchen (etwas plumpe) zeigte.

Zur Sicherstellung der Diagnose schien es noch angezeigt, die Agglutination mit hochwertigem Typhusserum heranzuziehen. Die makroskopische Probe mit Kaninchentyphusserum ergab nach 3 Stunden bei 37° C und 20 Stunden bei Zimmertemperatur für einen Museumstamm Ty. K, der in unserem Institut zur Anstellung von Widal-Proben dient, den Titer 8000, für die glatte Kolonie 32 000, für die genabelte 16 000, während die Zwergform nur bis 100 agglutiniert wurde. Ein anderes Kaninchentyphusserum zeigte für Stamm K einen Titer von 2000, für die glatte Kolonie 4000, die Zwergform wurde bei $^1/_{250}$ nicht agglutiniert. Die glatte und genabelte Form erwiesen sich somit als gut, eher vielleicht hyperagglutinabel, die Zwergform dagegen stark hyperagglutinabel. Um doch zu einer Entscheidung zu gelangen, wurde je ein Tier mit der genabelten und mit der Zwergform intravenös injiziert; nach 2 Injektionen zeigten die Sera von beiden Tieren einen Titer von 1600 für Ty. K.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:23 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Es war also die Zwergform zwar hyperagglutinabel, aber doch ebenso agglutinogen, wie die gut agglutinable (wenn auch beide allerdings nur mäßig).

Tabelle I.

	Glatte Kolonieen	Genabelte Kolonieen	Zwergform
Bouillon	Trübung, leichter Bodensatz, Indol —	wie dan.	Trübung, Indol —
Peptonwasser	schwache Trübung, Indol —	wie dan.	wie dan.
Kartoffel	unsichtbarer, feuchter Belag	wie dan.	wie dan.
Neutralrotagar	unverändert	wie dan.	wie dan.
Milch	unverändert	wie dan.	wie dan.
Lackmusmolke	schwache Trübung, dann schwache Rötung u. Aufhellung	wie dan.	wie dan.
Traubenzucker-Nutroselösung	nach 7 Tagen rotviolett	nach 7 Tagen rot mit leichter Opaleszenz	nach 7 Tagen rot
Laktose-Nutroselösung	nach 7 Tagen bläulich	wie dan.	wie dan.
Mannit-Nutroselösung	nach 7 Tagen rotviolett	nach 7 Tagen rot, leichte Opaleszenz	nach 7 Tagen rot
Maltose-Nutroselösung	nach 7 Tagen rotviolett	nach 7 Tagen violett	nach 7 Tagen rot mit Opaleszenz, nach 15 Tagen koaguliert
Saccharose-Nutroselösung	nach 7 Tagen unverändert	wie dan.	wie dan.
Gelatinestich	keine Verflüssigung	wie dan.	wie dan.
Beweglichkeit	gut	wie dan.	wie dan.

War auf diese Weise festgestellt worden, daß es sich um eine atypische und inagglutinable Typhusabart handelt, so mußte weiter versucht werden, sich über den Mechanismus der Hemmung klar zu werden. In ähnlichen Fällen, die Jacobsen sowie Fromme beschrieben hatten, ließ sich die Hemmung durch Zusatz von reduzierenden Substanzen oder Serum zum Agar beheben — in meinem Falle habe ich keinen Erfolg davon gesehen. Auch kann ich die Ursache oder wenigstens die Hauptursache der Hemmung nicht in den Veränderungen erblicken, die die Autoklavierung am Agar verursacht, da unser Agar nur im Kochschen Dampftopf sterilisiert wird. Ich wäre also eher geneigt, die Hauptursache in einer inneren Umstimmung der betreffenden Sippe zu erblicken, die in meinem Falle ziemlich weit gediehen ist, so daß auch bessere Ernährungsbedingungen und Ausschaltung von etwaigen Oxydationsprodukten nicht imstande sind, die Entwickelungshemmung zu beheben.

Es schien mir ferner noch angezeigt, nachzuforschen, was denn aus den in die anderen Nährböden gleichzeitig mit der Blutbouillon eingeführten und entwickelten Bakterien geworden war. Eine Aussaat aus den 5 Traubenzuckerpeptonwasserröhrchen blieb steril — die abgespaltene Säure hatte offensichtlich die Bakterien abgetötet. Die Aussaat aus dem ersten Blutgalleröhrchen blieb zunächst nach 2-tägiger Bebrütung bei

Generated on 2019-09-15 15:23 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

37° C steril, erst am 3. Tage zeigten sich ca. 60 sehr kleine Kolonieen, die nach ein paar Tagen einen Durchmesser von 1—2 mm erreichten. Sie waren dann weißlich undurchsichtig mit sehr starker schleifenförmiger Riffelung und leicht gekerbten Rändern. Nach ungefähr 10 Tagen waren an 2 Kolonieen ziemlich große, flach ausgebreitete, durchscheinende Auswüchse mit verwaschener Zeichnung zu sehen. Bei weiterer Fortzüchtung reproduzierten die kleinen Kolonieen immer wieder das Bild der Wachstumshemmung, indem sie auch nach längerer Zeit 0,5—1,5 mm Durchmesser nicht überschritten, die Auswüchse gaben ziemlich große, flache (4—6 mm Durchmesser), milchig trübe, chagrinierte Kolonieen mit leicht gewellten Rändern von normaler Wachstumsintensität. Wir hatten also wieder eine Zwergform vor uns, aber nur mit geringer Rückschlagstendenz. Mikroskopisch zeigte die Zwergform ebenso wie die erste lange verschlungene Fäden, die flachen Auswüchse dagegen normale Kurzstäbchen.

Es wurde weiterhin eine Untersuchung der sonstigen kulturellen und biochemischen Merkmale dieser Zwergvarietät vorgenommen, deren Resultate in Tabelle II zu finden sind. Es fällt hier auf die geringe resp. fehlende Spaltungsfähigkeit bei Traubenzucker und Mannit sowie die starke Inagglutinabilität. Der Stamm wies mikroskopisch viele lange Fäden auf (wie die Zwergform aus der Blutbouillon) und hatte nach 24 Stunden in den Proberöhrchen ebenso wie in der Kontrolle körnig

Tabelle II.
Spaltlinge von Ty. Spatz.

	Galle 1	Galle 2 kleine geriffelte Kolonieen	Galle 2 große geriffelte Kolonieen	Galle 2 runde Kolonieen	Galle 3	Ty. K.
Bouillon	Trübung, Bodensatz, Indol —	wie dan.	wie dan.	wie dan.	wie dan.	wie dan.
Kartoffel	undurchsichtiger, feuchter Belag	wie dan.	wie dan.	wie dan.	wie dan.	wie dan.
Lackmusmolke	rotviolett aufgehellt	wie dan.	wie dan.	wie dan.	rotviolett	violett
Traubenzucker-Nutroselösung	rotviolett n. 10 Tagen	rot koaguliert	rotviolett	rotviolett	rot koaguliert	wie dan.
Laktose-Nutroselösung	unverändert	wie dan.	rot opaleszierend	unverändert	wie dan.	wie dan.
Maltose-Nutroselösung	violett	violett	rot	violett	rotviolett	violett
Mannit-Nutroselösung	violett	rot nach 10 Tagen	violett	violett	rotviolett	rot koaguliei
Saccharose-Nutroselösung	unverändert	wie dan.	wie dan.	wie dan.	wie dan.	wie dan.
Milch	unverändert	wie dan.	wie dan.	wie dan.	wie dan.	wie dan.
Neutralrotagar	unverändert	wie dan.	wie dan.	wie dan.	wie dan.	wie dan.
Gelatinestich	keine Verflüssigung	wie dan.	wie dan.	wie dan.	wie dan.	wie dan.
Agglutination mit Ty.-Kaninchenimmunser.	< 125	250	1000	< 125	16 000	16 000

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:23 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

sedimentiert, nach 3 Stunden bei 37° C aber, wo die Kontrolle noch einwandfrei erschien, war in der stärksten Konzentration von $^1/_{125}$ keine Spur von Reaktion zu sehen. Auch die Immunisierung eines Kaninchens (das übrigens nur 2mal injiziert wurde) gab hier keine Entscheidung, da das Serum bei $^1/_{100}$ nur schwache Agglutination mit dem Laboratoriumsstamm Ty. K gab. Jedenfalls war der Stamm zum mindesten schwach agglutinogen, vielleicht gar inagglutinogen. Wenn auch nach dem Ausfall dieser Versuche die Typhusnatur dieser Sippe nicht sicher bewiesen erscheint, so glaube ich doch andererseits in Anbetracht der anderen Merkmale und der Analogie mit der Zwergform aus der Blutbouillon mit gewisser Wahrscheinlichkeit annehmen zu dürfen, daß hier eine Varietät vorliegt, die sich vom Typus noch weiter entfernt hat, als die Zwergform aus der Bouillon, indem ihre Agglutinogenität, ihr Zuckerspaltungsvermögen sowie ihre Rückschlagsfähigkeit stark abgenommen haben.

Aus dem zweiten Blutgalleröhrchen wurden folgende 3 unverändert fortzüchtbare Formen isoliert: 1) Kleine bis mäßig große (1—2,5 mm Durchmesser), mäßig durchscheinende Kolonieen mit starker schleifenförmiger Riffelung und leicht gekerbten Rändern; 2) ebensolche mittelgroß bis groß (2—4 mm Durchmesser), weniger durchscheinend; 3) kleine bis mäßig große, runde, stark chagrinierte, kaum durchscheinende Kolonieen. Die kulturellen sowie biochemischen Eigenschaften dieser 3 Spaltlinge sind aus Tabelle II zu ersehen. Zu bemerken wäre hier wiederum das Fehlen der Mannit- und Traubenzuckervergärung bei der zweiten und dritten Form und die Veränderung der Laktose-Nutroselösung bei der zweiten. Die Agglutinationsprüfung mit hochwertigem Serum ergab sehr schwache Beeinflussung bei der ersten, schwache bei der zweiten und fehlende bei der dritten Form. Das mit der letzteren immunisierte Kaninchen ergab ebenfalls keine sicher als spezifisch zu bezeichnende Serumreaktion.

Aus dem dritten Blutgalleröhrchen wuchsen Kolonieen, die morphologisch mit der letzterwähnten dritten Form übereinstimmten, Mannit schwach vergärten und einwandfreie Agglutination bis zur Titergrenze des Serums aufwiesen.

Wenn wir die in diesem Abschnitt gewonnenen Erfahrungen noch einmal überblicken, so sehen wir, daß wahrscheinlich aus einem Stamm (es liegt keine Veranlassung vor, gleich im Krankenblut eine Vielheit von Stämmen zu vermuten) unter dem Einfluß des Alterns und der Nährbodenfaktoren eine Reihe von Veränderungen resultiert. Als solche Faktoren kommen in Betracht: Die je nach dem Nährboden wechselnden Stoffwechselprodukte, die Anwesenheit von Blut, speziell vielleicht Zerfallsprodukte der Erythrocyten, sowie sein Gehalt an Schutzstoffen resp. Agglutininen, sodann die Wirkung der Gallenbestandteile, die, wenn sie auch in Gegenwart von Blut die Entwickelung der Typhusbakterien nicht hemmen, doch bei protrahiertem Kontakt nicht irrelevant sein dürften. Wir sehen, wie vielfach und wie verschiedenartig die beobachteten Abweichungen in bezug auf Wachstumsintensität und Form, Zuckerspaltungsvermögen und biologische Eigenschaften sich darstellen bei einer Art, die vielleicht mit Recht als besonders gefestigt in ihrem Typus („artfest") gilt.

Besonderes Interesse beanspruchen die Wachstumseigentümlichkeiten. Wir finden hier eine Erscheinung wieder, die wir in der vorhergehenden Mitteilung bereits bei 2 Prodigiosum-Stämmen als Zwergform angetroffen haben. Dort hatte bei einem Stamm die Zwergform sich als konstant erwiesen, während sie bei einem anderen beständig in die

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:23 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Normalform zurückspaltete. Bei unserem Typhusstamm haben wir beide Vererbungsweisen repräsentiert (Zwergform aus Blutbouillon und Galle 1). Außerdem sei hier auf die Parva-Form des Bac. indicus verwiesen, die nach Beijerinck ebenfalls fortwährend die Normalform abspaltet. Von den von Jacobsen sowie von Fromme beschriebenen Zwergvarietäten unterscheidet sich die unserige neben anderen auch dadurch, daß jene direkt aus dem infizierten Organismus als solche hervorgingen, während die unserige erst in der Kultur ihre Eigentümlichkeiten erworben zu haben scheint.

Was Aenderungen der Agglutinabilität und Agglutinogenität betrifft, die bei allen Kulturen durch Mutation an einer Anzahl von Individuen auftreten, sei vor allem auf die interessanten Beobachtungen von Bernhardt und Ornstein verwiesen. Die meisten in der Literatur darüber niedergelegten Befunde betrafen Stämme, die direkt aus dem infizierten Organismus oder aus Wasser gezüchtet waren, seltener Stämme, die experimentell durch verschiedene Eingriffe eine Störung dieser Funktionen erlitten hatten.

Interessant wäre zweifellos die weitere Verfolgung der Variabilität des Zuckerspaltungsvermögens beim Typhusbakterium, wie es z. B. Twort sowie Penfold für Laktose, Dulcit und Isodulcit, Mandelbaum für Glyzerin getan haben.

Ergänzungsweise möchte ich bemerken, daß ich seit Publikation der 2. Mitteilung Gelegenheit hatte, noch weitere 33 Cholera-Stämme auf die Variabilität ihrer Kolonieform zu untersuchen, die ich teils dem freundlichen Entgegenkommen des Herrn Sanitätsinspektors Dr. G. Markl in Triest verdanke, teils dem hiesigen Museum entnommen habe. Bei 28 davon konnte ich wieder Spaltungen in zwei oder mehrere kulturell unterscheidbare Formen feststellen — ein noch höherer Anteil also, als er damals erreicht wurde. Wenn ich jene 15 mit 10 positiven Resultaten dazu rechne, so bekommen wir im ganzen 48 Stämme mit 38 positiven Befunden (ca. 80 Proz.).

Sodann habe ich noch bei 3 aus der Luft gezüchteten Stämmen von B. herbicola die Mutationsbefunde von B. Beijerinck voll bestätigen können.

V. Theoretische Besprechung der Resultate.

Wenn ich jetzt über das vorliegende Tatsachenmaterial einige Bemerkungen machen soll, so liegt es am nächsten, zunächst das Gemeinsame aus der Mannigfaltigkeit der dargestellten Tatsachen herauszuschälen. Wir haben es hier mit Aenderungen der Eigenschaften der verschiedenen Kleinarten zu tun, die beim Altern unserer Kulturen vor sich gehen, und die einerseits unter natürlichen Daseinsbedingungen ihre Analoga, in den Ergebnissen der experimentellen Mutation ihre Erklärung finden dürften. Die Aenderungen betreffen zum Teil die Morphologie der Keime selbst, zum Teil die Morphologie ihrer Aggregate, zum Teil biochemische oder serologische Merkmale, in manchen Fällen auch die Infektionstüchtigkeit der Mikroben. Wir haben schon früher gesagt, daß, wenn man sich nicht allzu ängstlich an das erste genau studierte klassische Exempel der Oenothera-Mutation hält (das übrigens wahrscheinlich im Sinne neuerer Forschungen überhaupt anders gedeutet werden muß), sondern das Wort „Mutation“ in seiner jetzt wohl meist gebräuchlichen weiteren Fassung zuläßt, man die uns interessierenden Vorgänge mit diesem Namen belegen darf. Es wird dabei abstrahiert von der Sponta-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:23 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

neität, Richtungslosigkeit und Beschränkung des Variationsvorgangs auf wenige Ausnahmsindividuen — bei Bakterien infolge ihrer Vermehrungsweise auch auf amphimiktische Vermehrung der Mutanten und exakten Nachweis der sprungweisen Entstehung. Alle diese Kennzeichen, die früher mit dem Mutationsbegriff in mehr oder minder engen Konnex gebracht wurden, hat die Weiterentwickelung der Mutationslehre abgestreift. Als Mutation kann jetzt jede plötzlich nicht durch Amphimixis entstandene, erblich fixierte Aenderung von Merkmalen gelten. Unsere Untersuchungen an Bakterien lassen auch die Forderung nach einer „absolut fixierten" Erblichkeit der Veränderungen als nicht gerechtfertigt und vor allem als untunlich erscheinen, indem sie in Uebereinstimmung mit den Befunden von Baerthlein u. a. den Rückschlag (d. h. eine begrenzte Erblichkeit) als konstantes (oder fast konstantes) Begleitphänomen der Mutation hinstellen. Dieselbe Beschränkung wird übrigens auch durch die Erscheinungen der partiellen Erblichkeit sowie der beständig umschlagenden Sippen im weiteren Gebiet der Erblichkeitslehre geboten.

Ich habe oben gesagt, daß die ursprünglich als obligates Merkmal der Mutation betrachtete Richtungslosigkeit der Aenderungen besser aus dem Mutationsbegriff ausgeschaltet wird. Es wurden hier, wie es scheint, zwei Einteilungsprinzipien miteinander verquickt, die zweckmäßig gesondert bleiben sollten. Man kann die Variationen je nach ihrem Mechanismus in Modifikationen und Mutationen einteilen — die dabei entstehenden Aenderungen der Reaktionsweise als zweckmäßige, unzweckmäßige oder indifferente unterscheiden. Es wäre aber meiner Ansicht nach unrichtig, Aenderungen, die stoßweise auftreten und erblich fixiert sind, deshalb den Namen von Mutationen vorzuenthalten, weil sie — zufällig oder nicht — „zweckmäßig" sind. Die „Richtungslosigkeit" sollte man eben ganz aus dem Spiel lassen — und die Frage nach dem Mechanismus einer Aenderung nicht mit derjenigen nach ihrer biologischen Bedeutung zusammenwerfen.

Wenn wir nun jetzt sehen, daß Mutationserscheinungen nach den Erfahrungen der letzten paar Jahre im ganzen Bakterienreich so verbreitet sind (Baerthlein, Beijerinck, Bernhardt und Ornstein, Nyberg, Verf. u. a.), so drängt sich unwillkürlich die Frage auf, ist es nur ein „Lupus naturae", der immer neue Formen schafft, oder liegt dem Vorgang eine „Zweckmäßigkeit" zugrunde? Ich gebrauche dieses verfängliche Wort selbstverständlich nicht in seiner teleologisch-neovitalistischen Färbung. Es soll auf diese Weise gar keine Zielstrebigkeit in die uns beschäftigenden Erscheinungen hineingedeutet werden, sondern nur die Tatsache festgestellt werden, daß manche Merkmale der Erhaltung der Art oder des Individuums dienlich sind. Es wird damit aber nicht gesagt, daß die betreffenden Merkmale „dazu" entstanden sind, um die Art oder das Individuum zu erhalten oder überhaupt, um zu nützen. In diesem Sinne der Feststellung eines besonderen Konnexes zwischen einem Merkmal und der Erhaltung der Art oder des Individuums ist die Anwendung des Zweckmäßigkeitsbegriffs in der Biologie wohl erlaubt und sogar geboten — man muß nur der Verpflichtung eingedenk bleiben, den Mechanismus seiner Entstehung ohne vorgefaßte Konzeptionen objektiv zu untersuchen.

Wenn nun seitens erfahrener Biologen vielfach darüber geklagt wird, daß gerade auf dem Gebiete des Zweckmäßigkeitsproblems so oft unkritische Hypothesen sich breit machen und daß wüste Phantasterei hier Orgien feiert, so müssen wir auch auf bakteriologischem Gebiet hier

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:23 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

große Vorsicht walten lassen. Einerseits sind unsere Kenntnisse über die Biologie der Bakterien vielfach zu ungenügend, um in diesen Fragen sichere Entscheidungen zu ermöglichen, andererseits beziehen sich unsere meisten Mutations- und Vererbungsversuche auf künstliche Kulturen, die in mancher Hinsicht auch gerade in „ökologischer" nur ein unvollkommenes, zuweilen sogar verzerrtes Bild der natürlichen Lebensverhältnisse bieten. Auch darf man selbstverständlich nicht, wie es getan wurde, überall um jeden Preis Adaptionen erblicken wollen, und wenn unter der Einwirkung eines dysgenetischen Faktors eine Varietät entsteht, die irgendeine Funktion eingebüßt hat, das auch als Anpassung deuten, indem man sagt, nur in dieser Form sei eben die Weiterzüchtung unter den gegebenen Bedingungen möglich gewesen. Eine Funktion kann ja in Wegfall kommen, wenn die Mittel zu ihrer Realisierung nicht vorhanden sind; in einem Fall kann das Leben dadurch unmöglich gemacht werden, im anderen kann der Ausfall ausgeglichen oder doch wenigstens ertragen werden.

Ueber die biologische Dignität derjenigen Merkmale, die uns in den vorhergehenden Mitteilungen beschäftigt haben, wissen wir meist ziemlich wenig. Nur die Sporulation bildet in dieser Richtung eine Ausnahme, da ihr zweifellos Zweckmäßigkeit zukommt. Inwieweit freilich der temporäre oder konstante Verlust dieses Vermögens die Existenz der Art resp. des Individuums gefährdet, darüber können wir nur Vermutungen aufstellen — nur in wenigen Fällen ist uns bekannt, ob in den natürlich gebotenen Substraten die Milzbrandbacillen, die wir züchten, als Sporen oder als vegetative Formen vorhanden waren. Ob den bakteriellen Farbstoffen, den intracellulären sowohl als den paracellulären, als auch den ausgeschiedenen irgendwelche Bedeutung im Haushalt der Bakterien zukommt, darüber wissen wir noch so gut wie gar nichts, können daher auch über die Aenderungen ihrer Produktion uns kein zufriedenstellendes Urteil bilden. Ebenso unklar ist der verschiedene Grad von Bildung alkalischer Stoffwechselprodukte, der manche Fluoreszenz-Sippe voneinander unterscheidet und sich in Kristallbildungen kundgibt. Auch solche biologische Merkmale, wie die Agglutinabilität oder Agglutinogenität, so wichtig und interessant sie auch in anderer Hinsicht sein mögen, sind in bezug auf Zweckmäßigkeit kaum zu beurteilen. Zucker- und Eiweißspaltungsvermögen wird man meist als zweckmäßige Eigenschaft betrachten dürfen, wenn auch das Beispiel des Milzbrandbacillus auf Traubenzucker- oder Glyzerinagar uns zeigt, daß diese Fähigkeit ein zweischneidiges Schwert werden kann, wenn übermäßig produzierte Säure der Versporung oder der Lebensfähigkeit der Bacillen verhängnisvoll wird. Wenn man dies berücksichtigt, wird man sogar z. B. das herabgesetzte Spaltungsvermögen der asporogenen Milzbrandrassen (Andrews) als nützliches Merkmal ansprechen können.

Auch in bezug auf die verschiedenen Wachstumsformen auf unseren Nährböden, wie sie uns am öfteren begegnet sind, ist vorläufig nichts Sicheres zu sagen. Es ist dies eine Kollektiveigenschaft, die eben nur an Kulturaggregaten festzustellen ist, und die wir sogar nicht in allen Fällen auf bestimmte Eigentümlichkeiten der Einzelkeime zurückzuführen imstande sind. In manchen Fällen hängen die verschiedenen Kolonieformen mit der Morphologie des Individuums zusammen. Auswachsen zu fest zusammenhängenden Fäden kann größere Undurchsichtigkeit und schleifenförmige Zeichnung bedingen. Gewisse Eigentümlichkeiten der Bakterienmembran, die ein stärkeres Aneinander-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:23 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

haften der Einzelkeime zur Folge haben, sowie das Bestreben, in die Höhe statt in die Fläche sich auszubreiten, sind für die „dunkle", stark gefaltete und undurchsichtige Form der Cholerakolonieen von mir verantwortlich gemacht worden. Von Nyberg und von mir sind jetzt analoge Formen in der Fluoreszensgruppe gefunden worden — sie bilden die Normalform bei B. herbicola. Das stärkere Vermögen, in die Tiefe des Nährbodens hineinzuwachsen und dort sekundäre Tiefenkolonieen zu bilden, führt zur Entwickelung von sogenannten Ringformen oder von „granulierten" Formen, die bei Cholera und vielen anderen Bakterienarten angetroffen werden. In der 2. Mitteilung habe ich ausgeführt, daß manchen dieser Formen, die in älteren Kulturen meist entstehen, vielleicht Anpassungswert zukommen kann. Die trockene kompakte, wenig ausgebreitete Form wird der Austrocknung weniger zugänglich sein als die flache, und erweist sich oft tatsächlich als lebenskräftiger. Die Ringform kann erstens den Nährboden vielleicht besser ausnutzen, zweitens aber in der Tiefe des Agars vor Austrocknung besser geschützt sein. Freilich sind das Vorteile, die vorderhand eben nur für unsere Kulturbedingungen Geltung haben.

Ganz besonderes Interesse beansprucht als variierendes Merkmal das Schleimbildungsvermögen, sei es in Form von Kapselbildung oder als Ausscheidung amorphen Schleimes, Vorgänge, die sich wohl nur graduell voneinander unterscheiden dürften. Wir treffen das Merkmal in verschiedensten Bakteriengruppen, entweder so, daß es die Normalform charakterisiert und dann „nackte" Verlustvarietäten auftreten, oder in der Form, daß umgekehrt die Normalform nackt ist und eine Mutante schleimbildend. Zu den ersteren würden wir Streptococcus mesenteroides, mucosus, lanceolatus, Sarcina tetragena, das oben erwähnte Corynebacterium salmonicolor, die Gruppe des B. pneumoniae, B. tumescens, B. asterosporus, vermiformis, manche Essigbakterien, Purpurbakterien und manche Angehörige der Fluorescens-Gruppe zu rechnen haben, zur zweiten B. prodigiosum, B. anthracis und B. herbicola. Es handelt sich bei der Schleim- resp. Kapselbildung in den meisten Fällen wohl um eine Steigerung einer normalerweise den meisten Bakterienarten zukommenden Funktion.

Wenn wir nun nach der biologischen Bedeutung dieser Funktion fragen, so ist wohl anzunehmen, daß sie bei verschiedenen Bakterienarten eine verschiedene sein kann. Von Liesenberg und Zopf ist eine erhöhte Resistenz der schleimigen Varietät von Streptococcus mesenteroides gegenüber Erhitzen und Austrocknen festgestellt worden, und auch wir haben bei der schleimigen Varietät der Sarc. tetragena größere Erhitzungsfestigkeit gefunden. Ob diese biologisch natürlich wichtige Differenz immer zutrifft, ist noch nicht zu sagen — Zettnow hat sie bei seinem Mesenteroides-Stamm vermißt — auch ich habe sie bei einem Rhinosclerom-Stamm nicht finden können, doch waren die Versuche vielleicht nicht zahlreich genug. Jedenfalls erscheinen weitere Untersuchungen nach dieser Richtung hin erwünscht, um so mehr, als bei verschiedenen Pflanzen (Wüsten- und Steppenpflanzen, verschiedene Wasserpflanzen s. bei Neger und Beneke) die Schleimproduktion augenscheinlich einen zweckmäßigen Charakter trägt. Um nur ein nahestehendes Beispiel zu erwähnen, hat Jahn eine Myxobakteriazee beschrieben, deren Zellen bei guter Ernährung einzeln herumschwärmen, bei Verschlechterung der Lebensbedingungen aber sich zu einem Haufen vereinigen, Schleim abscheiden und

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:23 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

sich zu kugeligen Zellen verkürzen, denen Arthrosporennatur zukommt. Aehnliche Vorgänge scheinen im Entwickelungszyklus des Azotobacter vorzukommen.

Eine andere biologisch nicht weniger interessante, wenn auch noch viel umstrittene Rolle spielt die Kapselbildung bei pathogenen Arten. Eine Sonderstellung kommt hier vor allem dem Milzbrandbacillus zu. Bei diesem müssen wir zweierlei Kapselbildungsprozesse unterscheiden — den einen im Tierkörper, den anderen in künstlichen Nährböden. Die Einkapselung im infizierten Tierkörper, der diejenige in Blutserum oder blutserumhaltigen Nährböden gleichzusetzen ist, ist als Modifikation zu betrachten, die den von einem Serumbestandteil ausgeübten Reiz beantwortet. Der auf gewöhnlichen Nährböden nackte (es kommt hier auf 10—100000 Individuen ein bekapseltes vor), mittel- oder hochvirulente Bacillus umgibt sich im infizierten Tierkörper mit einer mächtigen Schleimkapsel, die er wieder einbüßt, wenn er auf künstliche Nährböden zurückkommt. Ueber die Bedeutung dieser Kapsel für die Virulenz und den Infektionsmechanismus sind die Akten noch nicht geschlossen (Fischoeder), so viel steht jedoch, dank den Untersuchungen von Deutsch, Loehlein, Gruber und Futaki, Preisz, Bail und Verf. fest, daß sie den Bacillen Schutz gegenüber der Phagocytose und Leukocytenbakterizidie verleiht und dadurch im Initialstadium der Infektion ihre Vermehrung fördert. Anders zu beurteilen ist die Kapselbildung, die als mehr oder weniger beständiges Merkmal bei manchen Spaltlingen vorkommt, und zwar meist bei solchen, die unter dem Einfluß dysgenetischer Faktoren entstehen. Da die Virulenz derartiger Sippen meist herabgesetzt ist, wird man wohl annehmen dürfen, daß die Kapselbildung nicht der einzige Faktor der Milzbrandvirulenz ist, auch ist noch nicht festgestellt, ob diese Kapsel wesensgleich ist mit jener, die an nackten Bacillen im Tierkörper entsteht. Dagegen kann diese Kapselbildung möglicherweise ein zweckmäßiger Vorgang sein im Sinne der oben besprochenen Tatsachen.

Daß bei der Gruppe der Kapselbakterien sowie bei der Sarcina tetragena ein Zusammenhang bestehen kann zwischen dem Kapselbildungsvermögen und der Virulenz, ist durch die Untersuchung von Toeniessen sowie durch die oben mitgeteilten Befunde erwiesen worden [2]). Es müßte freilich erst durch eingehendere Versuche mitgeteilt werden, worauf dieser Zusammenhang beruht — ob die Kapsel eine Schutzwirkung ausübt gegenüber den Abwehrmechanismen des tierischen Organismus, oder ob vielleicht ihre allmählich in Lösung gehende Substanz selber vielleicht eine Angriffswaffe des Mikroben vorstellt. Jedenfalls glaube ich in diesen Tatsachen eine weitere Stütze für eine Hypothese erblicken zu dürfen, die ich vor 6 Jahren aufgestellt habe und die unabhängig von mir gleichzeitig auch Sauerbeck ausgesprochen hat. Diese Hypothese betrachtet das Ektoplasma und sein Organ, die Bakterienmembran als wichtigen Faktor im Kampfe, den die eindringende Bakterienzelle mit den Abwehrkräften des Organismus zu bestehen hat. Es wurde damals darauf hingewiesen, daß bei manchen Bakterienarten reaktive Veränderungen dieses Zellorgans die Infektion begleiten, die wohl als Modifikationen aufzufassen sind. Heute kann gezeigt werden, daß ähnliche (hyperplastische) Veränderungen auch als dauernde Merkmale

1) Ebenso durch die inzwischen veröffentlichten Befunde von Pollak (dieses Centralbl. Bd. 72. 1913. p. 147—155) sowie die älteren von Schläfrig (Wien. klin. Wochenschr. 1901. No. 42. p. 1025—1027). (Anm. währ. d. Korr.)

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:23 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

mutationsartig auftreten können unter korrelativ ziemlich auffallender Veränderung des Virulenzgrades. Als weitere Stütze dieser Anschauung kämen in Betracht die jüngst publizierten interessanten Untersuchungen von Thiele und Embleton, die an einer Reihe von Saprophyten eine beträchtliche Virulenz unter gleichzeitigem Auftreten von Kapselbildungsvermögen erzielen konnten und deren Virulenztheorie sich vielfach an die oben erwähnte Hypothese anlehnt.

Es sei hier auch noch bemerkt, daß, wenn man das Schleim- und Kapselbildungsvermögen als variable Eigenschaft kennen gelernt hat, die makro- wie mikroskopisch so differente Sippen schaffen kann, man kaum geneigt sein wird, daraufhin etwa Artunterscheidungen aufzustellen, wie es in der Gruppe der Kapselbakterien sowie in der Gruppe der Sarcina tetragena mehrfach geschehen ist.

Ob die umgekehrte Umwandlung einer schleimigen Varietät in eine nackte ebenfalls als zweckmäßig gedeutet werden kann, wie z. B. Toeniessen es für sein B. pneumoniae tut, erscheint mir vorderhand fraglich. Nach diesem Forscher wird in alternden Kulturen bei einzelnen Keimen die Schleimbildungsanlage inaktiviert, weil die Bakterien durch Stoffwechselprodukte, unter denen der Schleim den ersten Platz einnimmt, geschädigt werden. Dieses Raissonnement würde stimmen, wenn erwiesen werden könnte, daß der Schleim ein schädliches Stoffwechselprodukt darstellt — dieser Beweis steht aber noch aus.

Unsere Ueberlegungen haben uns zur Genüge gezeigt, wie schwer es fällt, ein sicheres Urteil über die biologische Bedeutung bestimmter Variationen zu fällen, wir werden es daher auch als geboten erachten müssen, mit dem Schagwort „Degeneration", mit dem man früher so manche interessante Erscheinung abzutun glaubte, recht vorsichtig umzugehen. Die sichere Feststellung, daß ein Merkmal der Erhaltung der Art unzuträglich ist, ist bis jetzt nur in wenigen Fällen möglich gewesen — ganz abgesehen davon, daß auch solche Erscheinungen das vollste Interesse des Biologen beanspruchen dürfen. Die Gründe, die Csernel dazu geführt haben, die Erscheinungen der Choleramutation als „Degeneration" zu deuten, muß ich in Uebereinstimmung mit Baerthlein als auf Mißverständnis beruhend, ganz zurückweisen. Csernel unterscheidet nicht zwischen Modifikation und Mutation, und deshalb betrachtet er die natürliche Evolution der Kolonieformen auf einer Platte als identisch mit dem sprunghaften Entstehen der Mutante bei Aussaat aus alter Kultur. Am ehesten wäre man ja noch bei den Zwergformen geneigt an „Degeneration" zu denken, doch gerade hier lassen progressive Merkmale wie erhöhte Leuchtkraft bei Bac. indicus oder stärkere Farbstoffbildung bei B. prodigiosum an der Berechtigung einer solchen Bewertung zweifeln.

Im Sinne dieser Anschauungen möchte ich auch einen Ausspruch berichtigen, den ich früher gemacht habe. Die Erscheinungsgruppe des B. coli mutabile schien mir damals eine Sonderstellung einzunehmen und ich habe sie daher als „sprungweise Adaption" bezeichnet. Zwei Gründe wären damals für mich maßgebend gewesen — erstens der ausgesprochene Zweckmäßigkeitscharakter, zweitens die Tatsache, daß unter geeigneten Umständen alle Individuen einer Kultur die Umwandlung durchmachen können. Was den ersten anbelangt, so habe ich oben begründet, daß für den Mutationsbegriff eigentlich nur die Entstehungsweise und die Erblichkeit der Variation maßgebend sind, daß also sehr wohl „zweckmäßige Mutationen" vorkommen können. Was den zweiten Punkt betrifft, so glaube ich jetzt, daß auch dieser kein ernstes Hindernis

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:23 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

bildet. Es liegt hier eben ein sehr labiles Merkmal vor, das unter dem Einfluß des adäquaten Reizes leicht umschlägt. Ist in anderen Fällen zur Auslösung der Mutation eine besondere Koinzidenz von Teilfaktoren nötig, die nur selten und an einer Minderzahl von Individuen realisiert werden, so sind hier eben diese Bedingungen einfach und für jedes Individuum unter gewissen Umständen (Ausschaltung der Konkurrenz) leicht herstellbar. Man könnte sich die Sache vielleicht am Beispiel einer Säule veranschaulichen mit quadratischem Querschnitt, die auf einer Fläche frei aufgestellt wäre. Die aufrechte Haltung der Säule entspräche dem farblos wachsenden Coli, die Seitenlage dem zuckerspaltenden. Da nun das Gleichgewicht der aufrechten Lage ein labiles, das der Seitenlage ein recht stabiles ist, wird ein geringerer Stoß genügen, die aufrecht stehende Säule umzustürzen. Dagegen wird es schwer sein, aus der Seitenlage die Säule wieder aufzurichten — dazu bedarf es einer Reihe komplizierter und gut abgepaßter Bewegungen. Auf einer Fläche, wo eine Reihe von Säulen stehen würden, würde eine einzige stärkere Erschütterung genügen, um alle umzustürzen — mit Mühe bekäme man es vielleicht fertig, eine einzige umgestürzte wieder zum Stehen zu bringen. Mit anderen Worten: schwer realisierbare Konstellationen des Anlagenmaterials werden nur selten und an wenigen Individuen in Erscheinung treten — stark prädisponierte oft und eventuell an der Gesamtheit einer Kultur. Wird der Stoß abgeschwächt, wie z. B. in einer knopfführenden Kolonie auf Endo-Agar durch gegenseitige Konkurrenz der Einzelkeime, so werden eben nur einzelne Individuen den schwachen Reiz mit einem Umschlag beantworten. Auch das Bestehen von Zwischenstufen bei der Erwerbung des Gärvermögens wurde als wichtiger Grund gegen die Mutationsnatur der Coli mutabile-Variation angeführt. Doch steht wohl nichts im Wege, den Vorgang der Umstimmung als Summe von kleinen diskontinuierlichen Aenderungen in der Richtung der natürlichen Prädisposition aufzufassen.

Schlußsätze.

1) Bei 7 verschiedenen Angehörigen der Fluorescens-Gruppe konnte eine Reihe von Mutanten gezüchtet werden, die sich voneinander durch folgende Merkmale unterscheiden lassen

a) durch Gefüge der Kolonieen als durchsichtige, halbdurchsichtige, undurchsichtige (dunkle), schleimige Ringformen und granulierte Formen;
b) durch vorhandene oder fehlende Pyocyaninbildung;
c) durch vorhandene oder fehlende Fluorescinbildung;
d) durch vorhandene oder fehlende Gelatinaseproduktion;
e) durch stärkere oder schwächere Bildung von alkalischen Stoffwechselprodukten, verbunden mit Kristallbildungen im Nährboden.

2) Bei einer Reihe von Stämmen aus der Kapselbakteriengruppe konnten nackte und schleimige Mutanten gezüchtet werden. Saure Reaktion scheint den Umschlag der schleimigen Varietät in die nackte zu begünstigen, alkalische ihn zu verhindern.

3) Bei einem Rhinoskleromstamm erwies sich die schleimige Varietät als hitzebeständiger von der nackten.

4) Bei einem Stamm von Sarcina tetragena konnten ebenfalls zwei solche Mutanten gezüchtet werden, auch hier förderte saure Reaktion den Umschlag der schleimigen in die nackte.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:23 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

5) Die schleimige Varietät der Sarcina tetragena erwies sich als gut virulent für Mäuse und Meerschweinchen, die nackte als avirulent.

6) Aus 9 Monate aufbewahrten Blutbouillon- sowie Blutgallekulturen eines normalen Typhusstammes konnten verschiedene Varietäten gezüchtet werden, vor allem Zwergformen, die, wie das B. typhi mutabile von Jacobsen, immer wieder normal wachsende Kolonieen abspalteten. Sie waren inagglutinabel, zum Teil auch inagglutinogen, auch wies ihr Gärvermögen gewisse Eigentümlichkeiten auf. Durch reduzierende Stoffe oder Serumzusatz ließ sich die Entwickelungshemmung nicht beheben.

Allgemeine Schlußsätze zur III.—V. Mitteilung.

1) Die Bakterien beanspruchen in der Erblichkeitsforschung eine Sonderstellung infolge ihrer biologischen Eigentümlichkeiten:

a) Infolge der raschen Individuenfolge ist hier eine Zellgeneration nicht einer Generation bei höheren Lebewesen gleichzusetzen; am ehesten entspräche diesem Begriff eine Nährbodenpassage, wo durch eine Reihe von 20—40 sukzessiven Teilungen das Zellmaterial eine ungefähr millionenfache Vermehrung erfährt, ebenso wie bei der Entwickelung eines höheren Lebewesens aus der Eizelle.

b) Infolge der raschen Individuenfolge ist wahrscheinlich eine größere Anzahl von „sensiblen Perioden“ gegeben, die eine größere Beeinflußbarkeit der Bakterien bedingen würden.

c) Die große Oberflächenentfaltung bietet eine ausgedehnte Angriffsfläche für die Wirkung äußerer Faktoren.

d) Die innige Vermengung des Keimplasmas mit dem Soma bedingt eine große Exposition des ersteren und die Notwendigkeit von Parallelinduktion bei Einwirkung äußerer Reize.

e) Die Experimente können nur an Massenkulturen ausgeführt werden, wodurch manche Vorteile der Individualanalyse entfallen — auch sind die meisten Merkmale nur an Bakterienaggregaten festzustellen.

2) Infolge dieser Eigentümlichkeiten legen Bakterien in Variabilitätsuntersuchungen eine größere Plastizität an den Tag, als wir bei höheren Lebewesen zu finden gewohnt sind, und es können an ihnen innerhalb kurzer Zeit ziemlich tiefgreifende Umwandlungen erfolgen.

3) Die Veränderungen der Merkmale können entweder vorübergehender oder dauernder Natur sein — die ersten können als Modifikationen, die letzteren als Mutationen bezeichnet werden. Kombinationen kommen bei Bakterien nicht in Betracht, Fluktuationen als besondere Kategorie aufzustellen, liegt keine genügende Veranlassung vor.

4) Als Mutation kann jede nicht auf Amphimixis zurückzuführende unvermittelt auftretende, erblich fixierte Aenderung der Reaktionsnorm angesprochen werden. Dieselbe beruht auf einer durch äußere Einwirkungen bedingten Reaktion des Idioplasmas.

5) Bei Bakterien kann das plötzliche Auftreten solcher Aenderungen von einer Generation zur anderen nicht ganz exakt nachgewiesen werden — doch dürfte darin kein wesentlicher Unterschied gegeben sein.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:23 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

6) Die Mutationen sind an sich als richtungslos aufzufassen, über ihre Zweckmäßigkeit oder Unzweckmäßigkeit entscheidet erst die Lebenslage. Daher ist es wohl zulässig, auch zweckmäßige Variationen als Mutationen einzureihen, wenn ihr Entstehungsmechanismus und ihre erbliche Konstanz den oben gestellten Anforderungen entsprechen.

7) Die biologische Wertbemessung von Mutationen erfordert große Vorsicht, da sich der progressive oder retrogressive Charakter nur schwer sicher feststellen läßt. Besonders sollte man mit der Bezeichnung „Degeneration" sehr zurückhalten.

8) Manchen Mutanten dürfte Zweckmäßigkeitscharakter zugesprochen werden — so manchen Besonderheiten der Kolonieform und Struktur, dem Erwerb vom Gärvermögen, oft auch der Schleim- und Kapselbildung durch Erhöhung der Resistenz oder durch Virulenzsteigerung.

9) Zwischen Modifikationen und Mutationen besteht kein absoluter Wesensunterschied, es können vielmehr dieselben Reize je nach der Intensität, Einwirkungsdauer und nach dem Zustand der betroffenen Zelle Aenderungen von verschiedener Stabilität hervorrufen, die dann unter Umständen eine Reihe fließender Uebergänge zwischen rasch verschwindenden Modifikationen und lange unveränderlichen Mutationen darstellen.

10) Auch ist die Erblichkeit des mutierten Merkmals nicht bei allen Nachkommen die gleiche, sondern hängt von der Lebenslage der Einzelkeime ab — ein Teil davon kann früher oder später zurückschlagen. Es gibt Sippen, wo dies besonders leicht und ganz regelmäßig in jeder Generation erfolgt.

11) Die Variationsbreite scheint in der idioplasmatischen Grundlage der Großart gegeben zu sein. Die meisten beobachteten Mutationen beruhen auf Verlust von Eigenschaften, deren Gene man sich dann als inaktiviert vorstellen kann. Doch gibt es anscheinend auch manche Mutationen, die den Eindruck von „Gewinnmutationen" erwecken.

12) Die auf Mutation beruhende Variabilität scheint nicht über die Grenzen der Großart hinauszuführen, Klein(Elementar)arten können wohl durch Mutation entstehen.

13) Die „Vererbung erworbener Eigenschaften" kann bei Bakterien als nach strengsten Anforderungen erwiesen gelten.

14) Reine Linien sind bei Bakterien bei gewöhnlicher Fortzüchtung ohne Mithilfe von besonderer Züchtungsart oder säubernder Auslese meist nicht reinzuhalten.

Zum Schlusse will ich auch an dieser Stelle meinem hochverehrten Chef, Herrn Geheimrat Prof. R. Pfeiffer, meinen tief empfundenen Dank aussprechen für das lebhafte Interesse, das er meinen Arbeiten entgegenbrachte, sowie für die vielfachen Anregungen, die ich aus Unterhaltungen mit ihm geschöpft habe.

Auch Frau Maria Okolska, meiner treuen und aufopferungsfreudigen Mitarbeiterin, sei für ihre unermüdliche und verständnisvolle Hilfe mein herzlichster Dank ausgesprochen, die es mir ermöglicht hat, die mühevollen Milzbranduntersuchungen durchzuführen.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:23 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Literatur zur III.—V. Mitteilung

(soweit nicht bereits in der I. und II. Mitteilung angeführt).

Andrejew, P., Ref. in Baumgartens Jahresber. Bd. 14. p. 160—161.
Baerthlein, Arb. a. d. Kais. Gesundh.-A. Bd. 40. p. 433—536.
—, Dtsche med. Wochenschr. 1912. No. 31.
—, Diese Zeitschr. Abt. I. Orig. Bd. 71. 1913. p. 1—13; Bd. 66. 1912. p. 21—35.
—, Diese Zeitschr. Abt. I. Ref. Bd. 57. Beih. p. 89—92, 281—284.)
Bail, O., Wien. klin. Wochenschr. 1906. No. 43.
Bampton, Diese Zeitschr. Abt. I. Orig. Bd. 71. 1913. p. 129—146.
Baur, E., Einführung in die experimentelle Vererbungslehre. Berlin 1911.
Beham, L. M., Diese Zeitschr. Abt. I. Orig. Bd. 66. 1912. p. 110—121.
Beijerinck, Diese Zeitschr. Abt. II. Bd. 4. p. 657—663, 721—730.
Benecke, W., Bau und Leben der Bakterien. Leipzig-Berlin 1912.
Bernhardt, G. u. Ornstein, O., Berlin. klin. Wochenschr. 1913. No. 1.
— u. Paneth, Diese Zeitschr. Abt. I. Ref. Bd. 57. Beih. p. 83—96.
Blaringhem, L., Les transformations brusques des êtres vivants. Paris 1911.
Busson, Diese Zeitschr. Abt. I. Orig. Bd. 58. 1911. p. 505—509.
Csernel, E., Ibid. Bd. 68. 1913. p. 145—150.
Deutsch, E. u. Feistmantel, Impfstoffe und Sera. 1904.
Eisenberg, Ph., Diese Zeitschr. Abt. I. Orig. Bd. 68. 1912. p. 305—321.
—, Ibid. Bd. 66. 1912. p. 1—19.
—, Vortrag i. d. Hyg. Sekt. d. Schles. Ges. f. vaterländ. Kult. in Breslau am 4. Dez. 1912; Berlin. klin. Wochenschr. 1913. p. 234.
—, Vortrag i. d. Med. Sekt. d. Schles. Ges. für vaterländ. Kult. in Breslau am 14. Febr. 1913; Berlin. klin. Wochenschr. 1913. No. 17.
—, Die Umschau. 1912. p. 804—807.
—, Diese Zeitschr. Abt. I. Orig. Bd. 45. 1907. p. 44—49, 134—159, 638—659.
—, Ibid. Bd. 47. 1908. p. 415—427.
Fischer, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 2. 1887. p. 74.
Fischoeder, Diese Zeitschr. Abt. I. Orig. Bd. 51. p. 320—417.
Fromme, Ibid. Bd. 58. 1911. p. 448—453.
Gamaleia, N., Elemente der allgemeinen Bakteriologie. Berlin 1900.
Gessard, Ann. de l'Inst. Pasteur. 1907.
Gildemeister, zit. bei Baerthlein.
Goldschmidt, R., Einführung in die Vererbungswissenschaft. Leipzig 1911.
Goodman, zit. bei Winslow u. Walker.
Gruber u. Futaki, München. med. Wochenschr. 1907. No. 6.
Hefferan, M., Diese Zeitschr. Abt. II. Bd. 11. 1904. p. 311—317, 397—404, 456—475, 520—540.
—, Diese Zeitschr. Abt. I. Orig. Bd. 41. 1906. p. 553—562.
Jacobsen, K. A., Ibid. Bd. 56. 1910. H. 3/4.
Jahn, zit. bei Benecke. p. 97.
Johannsen, Elemente der exakten Erblichkeitslehre. 2. Aufl. Jena 1913.
Koch, R., Ges. Werke. I. p. 201, 230.
Kodama, Diese Zeitschr. Abt. I. Orig. Bd. 62. p. 177.
Laurent, E., Ann. de l'Inst. Pasteur. T. III. 1890. p. 465—483.
Lehmann u. Neumann, Atlas und Grundriß der Bakteriologie. 5. Aufl. 1912.
Löhlein, Diese Zeitschr. Abt. I. Ref. Bd. 38. Beih.
Maassen, Arb. a. d. Kaiserl. Gesundh.-A. Bd. 21. 1904. p. 385—402.
Mandelbaum, Diese Zeitschr. Abt. I. Orig. Bd. 63. 1912. p. 46, 304.
Markoff, W. N., Zeitschr. f. Infektionskrankh. d. Haustiere. Bd. 12. 1912. p. 137—158.
Müller, M., Diese Zeitschr. Abt. I. Orig. Bd. 66. 1912. p. 501—503.
Müller, R., Dtsche med. Wochenschr. 1910. No. 51.
Neger, F. W., Biologie der Pflanzen. Stuttgart 1913.
Nyberg, C., Ann. Acad. Scient. Fennicae. Ser. A. T. 3. No. 6. Helsinki 1912.
Penfold, W., Proceed. of the Roy. Soc. of. Med. 1911. Febr.
—, Journ. of Hyg. Vol. 11. 1911. p. 30—67; Vol. 12. 1912. p. 195—217, 487—502.
Plate, L., Vererbungslehre. Leipzig 1913.
Preisz, H., Diese Zeitschr. Abt. I. Orig. Bd. 58. 1911. p. 510—565.
Revis, C., Diese Zeitschr. Abt II. Bd. 31. 1911. p. 1—4; Bd. 33. 1912. p. 407—423, 424—428.
—, Proceed. of the Roy. Soc. B. Vol. 85. 1912. March 28. p. 192—194.
Růžička, V., Arch. f. Hyg. Bd. 34. p. 148; Bd. 37. p. 1.
Schiemann, E., Zeitschr. f. indukt. Abstammungs- u. Vererbungslehre. Bd. 8. 1912. p. 1—35.
Schierbeck, P., Arch. f. Hyg. Bd. 38. 1900. p. 294—315.
Schlemmer, Zeitschr. f. Immunf. Orig. Bd. 9. 1911. p. 180.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:24 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Schottelius, M., Kölliker-Festschr. Leipzig 1887; ref. bei Scheurlen, Arch. f. Hyg. Bd. 26. p. 1—31.
—, V. Tag. d. freien Verein. f. Mikrobiol. Dresden 1911.
Seiffert, G., Dtsche med. Wochenschr. 1911. No. 23.
—, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 71. 1912. p. 561—567.
Semon, R., Das Problem der Vererbung „erworbener Eigenschaften". Leipzig 1912.
Smirnow, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 4. 1888. p. 231—261.
Sobernheim, Artikel „Milzbrand". (Kolle-Wassermanns Handb. 2. Aufl. Bd. 3. 1913.)
Thiele, F. H. and Embleton, D., Lancet. 1913. Jan. 25.
— —, Zeitschr. f. Immunf. Orig. Bd. 19. 1913. p. 643—665.
Toenniessen, Med. Klinik. 1913. No. 20.
—, Verhandl. d. XXX. Kongr. f. inn. Med. Wiesbaden 1913. p. 491—495.
—, Diese Zeitschr. Abt. I. Orig. Bd. 69. 1913. p. 391—412.
Trautmann u. Gaehtgens, Diese Zeitschr. Abt. I. Ref. Bd. 57. 1913. Beih. p. 67—78.
Twort, Proc. Roy. Soc. B. Vol. 79. 1907. p. 329.
de Vries, H., Die Mutationen in der Erblichkeitslehre. Berlin 1912.
Walker, E. W. A., Proc. Roy. Soc. B. Vol. 83. 1911. p. 541—558.
Wasserzug, E., Ann. de l'Inst. Pasteur. T. II. 1888. p. 75—83, 153—157.
Wendelstadt, H. u. Fellmer, T., Zeitschr. f. Immunf. Orig. Bd. 3. p. 422—432; Bd. 5. p. 337—348.
Werbitzki, F. W., Diese Zeitschr. Abt. I. Orig. Bd. 53. p. 303.
Wilde, Ueber den Bac. pneumoniae Friedländer. [Inaug.-Diss.] Bonn 1896.
Wildenow, zit. bei de Vries.
Winslow, C. E. A., u. Walker, L. T., Journ. of Inf. Dis. Vol. 6. 1909. p. 90—97.

Nachdruck verboten.

Zur Bakteriologie der Appendicitis.

[Aus dem Bakteriologischen Institut zu Smolensk.]

Von **M. Isabolinsky.**

Die Aetiologie der Appendicitis ist schon längst Gegenstand des Studiums verschiedener Forscher gewesen. Die akuten und chronischen Formen der Erkrankung des Wurmfortsatzes sind so häufig und so einheitlich, rufen in einigen Gegenden zu gewissen Jahreszeiten Massenerkrankungen hervor, daß sie unwillkürlich an einen bestimmten Infektionserreger, der das nach der Meinung einiger Autoren überflüssige, nach der Ansicht anderer sehr wichtige sekretorische Organ betrifft, denken lassen. Bis jetzt blieben die Versuche, einen Erreger dieser, dem klinischen Verlaufe nach einheitlichen Erkrankung zu finden, ohne Erfolg. In der Mehrzahl der Fälle traten als Ursache der Appendicitis verschiedene Mikroorganismen auf, die auf die eine oder andere Weise in den Appendix gelangen und seine Entzündung hervorrufen. Wir haben keinen Beweis dafür, daß irgendeiner der pathogenen Mikroorganismen öfter eine Entzündung des Wurmfortsatzes hervorruft; ja in letzter Zeit ist mit Sicherheit der Zusammenhang zwischen Angina und der Entzündung des Wurmfortsatzes, der seiner anatomischen Struktur nach und seitens seines Lumens vielfachen Schädigungen ausgesetzt ist, festgestellt worden. Von einem feinen, schwach aktiven Epithel bedeckt, wird der Appendix leicht von Fremdkörpern und dabei von verschiedenen Infektionserregern durchdrungen. Französische Autoren haben versucht, die Erkrankungen des Wurmfortsatzes ausschließlich durch die Wirkung von Anaëroben zu erklären. Experimentelle Untersuchungen an Affen, die in dieser Hinsicht angestellt wurden, hatten aber ein negatives Resultat. Einige Autoren schrieben den Darmwürmern eine Rolle in der Aetiologie der Appendicitis zu; dieselben sollten entweder das Lumen des Appendix obturieren oder durch ihre Bewegungen

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:24 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

die Schleimhaut verletzen und auf diese Weise den Infektionserregern den Eintritt erleichtern.

Die Frage über einen spezifischen Erreger der akuten und chronischen Appendicitisform bleibt bis jetzt noch offen, und wenn auch ein solcher nicht existiert, so sind doch die Versuche seitens der Kliniker und Bakteriologen zum Zwecke der Erklärung dieser Frage nicht überflüssig.

Die große Zahl von akuten und chronischen Appendicitisfällen, die in die chirurgische Abteilung des hiesigen Gouvernementsspitals zur Behandlung kommen, hat mich veranlaßt, eine Reihe von systematischen Untersuchungen zur Klärung der Aetiologie dieser Erkrankung anzustellen. Dank dem Chef der Abteilung, Herrn Dr. Gonrewitsch, der in liebenswürdiger Weise mir die operierten Wurmfortsätze zusendete, konnte ich diese Untersuchungen durchführen.

Der in einem sterilen Reagensglas zugesandte Appendix wurde sorgfältig unter Berücksichtigung der nötigen Kautelen aufgeschnitten, aus seinem Inhalt zuerst Ausstrichpräparate angefertigt und nachher verschiedene Nährböden beimpft. Die Ausstrichpräparate habe ich nach Gram und Ziehl gefärbt, mikroskopisch genau untersucht; die beimpften Nährböden wurden nach 18—24 Stunden Bebrütung untersucht, die verdächtigen Kolonieen isoliert und weiter differenziert. Wenn im Lumen des Appendix Kotmassen sich befinden, so wurden dieselben auf Wurmeier untersucht.

Auf diese Weise habe ich 50 Fälle untersucht. Leider war die Mehrzahl der Fälle nicht von klinischen Angaben begleitet, und die folgende Tabelle leidet daher an Unvollkommenheit.

Aus der angeführten Tabelle von 50 untersuchten Appendicitisfällen ersehen wir, daß in 43 Fällen B. coli, meistens gleichzeitig mit anderen Mikroorganismen und seltener (17 Fälle) selbständig, gefunden worden ist. Man muß bedenken, daß das B. coli in der Aetiologie der Appendicitis eine untergeordnete Rolle spielt, da kein einziger schwerer Fall, jedenfalls mit schweren anatomischen Veränderungen, einzig und allein durch das B. coli verursacht war. Von 21 Fällen von Staphylococcus albus-Befund waren 15 mit dem B. coli vermischt. Von 10 Fällen von Staphylococcus aureus-Befund waren 7 mit B. coli, die übrigen 3 mit anderen Mikroorganismen kombiniert. Was die Bedeutung dieser 2 Staphylokokkenarten in der Aetiologie der Appendicitis anbetrifft, so sollte man denselben mehr Aufmerksamkeit schenken, wenn man auch in dieser Hinsicht nichts Bestimmtes sagen kann. In 6 Fällen wurde gleichzeitig mit dem genannten Erreger der Diplococcus lanceolatus gefunden. Dieser Diplococcus erwies sich in allen Fällen für Mäuse pathogen. Es unterliegt keinem Zweifel, daß in diesen Fällen die Hauptrolle in der Aetiologie der Appendicitis dem Diplococcus Fränkels zukommt. In diesen Fällen nämlich zeigten die Wurmfortsätze die schärfsten anatomischen Veränderungen. Das Gleiche ist in bezug auf den Streptococcus zu bemerken, der in 7 Fällen gezüchtet wurde. Man sollte denken, daß die Diplokokken wie die Streptokokkeninfektionen des Appendix bei diesen Kranken in Zusammenhang mit den vorher abgelaufenen Anginen stehen. In 3 Fällen war der B. pyocyaneus in Verbindung mit dem B. coli und Staphylokokken gefunden. Es ist möglich, daß in diesen 3 Fällen der B. pyocyaneus der Erreger der Appendicitis war, da dieser nicht zur gewöhnlichen Darmflora gehört. In 2 Fällen konstatierte ich schon bei der bakterioskopischen Untersuchung Tuberkelbacillen. Diese 2 Wurmfortsätze waren sehr verändert, gangränös, mit serös-eiterigem Inhalt; es ist sehr wahrscheinlich hierbei die Hauptrolle in der Aetiologie der

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:24 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle der untersuchten Fälle.

No. der Fälle	Makroskopische Veränderungen	Bakterioskopischer Befund	Bakteriologischer Befund
1	Langer Appendix, durchgänglich, fibrös degeneriert, irgendwo kleine Blutungen, sanguinolenter Inhalt.	Grampositive u. negative Kokken u. Stäbchen.	B. coli, Staph. albus.
2	Kurzer Appendix, am oberen Drittel gangränesziert, kaum durchgänglich, Blutungen, mit Kot gefüllt.	Gramnegative Stäbchen, grampositive Kokken.	B. coli.
3	Kurzer Appendix, durchgänglich, serös-blutiges Exsudat, irgendwo kleine Blutungen, mit Kot gefüllt.	Gramnegative u. positive Kokken u. Stäbchen.	B. coli, Staph. albus et aureus.
4	Kurzer Appendix, durchgänglich, am Fundus eine kleine Perforation, Kotmassen.	Eier von Ascaris lumbr., grampositive u. negative Kokken u. Stäbchen.	B. coli, Staph. albus, B. faecalis alcalig.
5	Kurzer Appendix, kaum durchgänglich, viele kleine Blutungen, seröses Exsudat.	Gramnegative Kokken u. Stäbchen.	B. coli.
6	Langer Appendix, durchgänglich, stark hyperämisiert, viele Blutungen am Fundus, serös-blutiger Inhalt.	Gramnegative Stäbchen u. Kokken.	B. coli.
7	Kurzer Appendix, kaum durchgänglich, fibrös degeneriert, gangränesziert, viele Blutungen, serös-blutiger Inhalt.	Gramnegative Stäbchen, grampositive Diplokokken.	B. coli, Dipl. lanceol., B. faecalis alcalig.
8	Kurzer Appendix, gangränesziert, kaum durchgänglich, eiteriger Inhalt.	Feine, körnige Tuberkelbacillen, gramnegative Stäbchen, grampositive Kokken u. Stäbchen.	B. coli, Staph. albus, Streptococcus.
9	Kurzer Appendix, durchgänglich, viele Blutungen, serös-blutiger Inhalt.	Gramnegative Stäbchen, grampositive Kokken u. Diplokokken.	B. coli, Dipl. lanceol., Staph. albus.
10	Langer Appendix, durchgänglich, irgendwo kleine Blutungen, Kotmassen.	Gramnegative Kokken u. Stäbchen.	B. coli.
11	Langer Appendix, durchgänglich, teilweise hyperämisch, mit Kot ausgefüllt.	Eier von Trichocephalus dispar, gramnegative Stäbchen.	B. coli.
12	Kurzer Appendix, durchgänglich, vereinzelte kleine Blutungen, Kotmassen.	Gramnegative Kokken u. Stäbchen.	B. coli.
13	Langer Appendix, durchgänglich, Blutungen, hyperämisiert, im Lumen ein Kotstein.	Gramnegative Stäbchen, grampositive Kokken.	B. coli, Staph. aureus, B. faecalis alcalig.
14	Langer Appendix, kaum durchgänglich, gangränesziert, viele Blutungen, serös-blutiger Inhalt.	Eier von Trichocephalus dispar, gramnegative Stäbchen u. grampositive Kokken.	B. coli, Dipl. lanceol., Staph. albus.
15	Kurzer Appendix, kaum durchgänglich, gangränisziert, am oberen Drittel entzündet, Blutungen.	Gramnegative Stäbchen u. grampositive Diplokokken.	B. coli, Streptococcus, Staph. albus.
16	Langer Appendix, durchgänglich, entzündet, Kotmassen, ein Stückchen dünner Draht, viele Blutungen.	Eier von Ascaris lumbr., gramnegative u. positive Stäbchen u. Kokken.	B. coli, Staph. albus.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:24 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

No. der Fälle	Makroskopische Veränderungen	Bakterioskopischer Befund	Bakteriologischer Befund
17	Kurzer Appendix, durchgänglich, leicht hyperämisiert, ein kleines Körnchen im Lumen, Kotmassen.	Eier von Ascaris lumbr., gramnegative Stäbchen.	B. coli.
18	Langer Appendix, durchgänglich, irgendwo kleine Blutungen, seröser Inhalt.	Gramnegative u. positive Kokken u. Stäbchen	B. coli, Staph. albus, B. faecalis alcalig.
19	Langer Appendix, durchgänglich, am Fundus Blutungen, entzündet, serösblutiger Inhalt.	Gramnegative u. positive Stäbchen u. Diplokokken.	B. coli, Dipl. lanceol.
20	Kurzer Appendix, durchgänglich, irgendwo kleine Blutungen, Kotmassen.	Gramnegative Stäbchen.	B. coli.
21	Kurzer Appendix, durchgänglich, teilweise hyperämisiert, Kotmassen.	Gramnegative Stäbchen.	B. coli.
22	Kurzer Appendix, durchgänglich, viele Blutungen, seröser Inhalt.	Gramnegative Kokken u. Stäbchen, grampositive Kokken.	B. coli, Staph. albus.
23	Langer Appendix, kaum durchgänglich, teilweise gangränesziert, viele Blutungen.	Grampositive Kokken u. Diplokokken.	Streptococcus u. Staph. aureus.
24	Kurzer Appendix, durchgänglich, kleine Blutungen, Kotmassen.	Eier von Ascaris lumbr., gramnegative Stäbchen.	B. coli.
25	Kurzer Appendix, kaum durchgänglich, gangränesziert, blutig-eiteriger Inhalt.	Feine, körnige Tuberkelbacillen, gramnegative feine Stäbchen.	B. pyocyaneus, Staph. albus.
26	Langer Appendix, durchgänglich, kleine Blutungen, Kotmassen.	Gramnegative u. positive Kokken.	Staph. albus u. aureus.
27	Langer Appendix, durchgänglich, kleine Blutungen, Kotstein.	Gramnegative u. positive Kokken u. Stäbchen	B. coli, Staph. albus.
28	Langer Appendix, kaum durchgänglich, stark entzündet, fibrös degeneriert, teilweise gangränesziert, viele Blutungen.	Gramnegative Stäbchen, grampositive Kokken.	B. coli, Streptococcus, Staph. aureus.
29	Kurzer Appendix, kaum durchgänglich, entzündet, viele Blutungen, serösblutiger Inhalt.	Grampositive Diplokokken.	Dipl. lanceol., Staph. albus.
30	Langer Appendix, durchgänglich, irgendwo kleine Blutungen.	Gramnegative Stäbchen, grampositive Kokken.	B. coli, Staph. aureus.
31	Kurzer Appendix, kaum durchgänglich, gangränesziert, stark entzündet, viele Blutungen, eiteriger Inhalt.	Grampositive u. negative Kokken u. Stäbchen.	B. coli, Streptococcus, Staph. albus.
32	Langer Appendix, durchgänglich, teilweise entzündet, Kotmassen.	Eier von Ascaris lumbr., gramnegative Stäbchen.	B. coli.
33	Langer Appendix, durchgänglich, Blutungen Kotmassen.	Gramnegative Stäbchen.	B. coli.
34	Kurzer Appendix, durchgänglich, viele Blutungen, im Lumen ein Kotstein.	Gramnegative u. positive Kokken u. Stäbchen.	B. coli.
35	Langer Appendix, kaum durchgänglich, fibrös degeneriert, am oberen Drittel entzündet, seröser Inhalt, Blutungen.	Grampositive Kokken u. Stäbchen.	Staph. albus, B. faecalis alcalig.

Generated on 2019-09-15 15:24 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

No. der Fälle	Makroskopische Veränderungen	Bakterioskopischer Befund	Bakteriologischer Befund
36	Langer Appendix, kaum durchgänglich, fibrös degeneriert, entzündet, teilweise gangränesziert, serös-blutiger Inhalt.	Grampositive u. negative Kokken u. Stäbchen.	B. coli, Streptococcus, Staph. aureus.
37	Kurzer Appendix, durchgänglich, stark entzündet, viele Blutungen, eiteriger Inhalt mit üblem Geruch.	Gramnegative Stäbchen.	B. coli, Staph. aureus, B. pyocyaneus.
38	Langer Appendix, durchgänglich, irgendwo Blutungen, Kotstein.	Gramnegative Stäbchen.	B. coli.
39	Kurzer Appendix, durchgänglich, irgendwo Blutungen, Kotmassen.	Eier von Trichocephalus dispar, gramnegative Kokken u. Stäbchen.	B. coli.
40	Langer Appendix, kaum durchgänglich, Blutungen, am oberen Drittel entzündet, seröser Inhalt.	Gramnegative u. positive Kokken u. Stäbchen.	B. coli, Staph. albus u. aureus.
41	Langer Appendix, durchgänglich, irgendwo Blutungen, Kotmassen.	Eier von Ascaris lumbr., gramnegative Kokken u. Stäbchen.	B. coli.
42	Kurzer Appendix, kaum durchgänglich, fibrös degeneriert, entzündet, teilweise nekrotisiert, viele Blutungen.	Gramnegative Stäbchen, grampositive Kokken u. Diplokokken.	Streptococcus, Staph. albus, B. faecalis alcalig.
43	Langer Appendix, durchgänglich, viele Blutungen, Kotstein.	Gramnegative Stäbchen u. Diplokokken.	B. coli.
44	Langer Appendix, durchgänglich, am Fundus kleine Blutungen, serös-blutiger Inhalt.	Gramnegative Stäbchen.	B. coli, Staph. albus.
45	Kurzer Appendix, kaum durchgänglich, entzündet, teilweise gangränesziert, viele Blutungen, serös-blutiger Inhalt.	Grampositve u. negative Stäbchen u. Kokken.	B. coli, Dipl. lanceol., Staph. aureus.
46	Langer Appendix, durchgänglich, irgendwo kleine Blutungen, seröser Inhalt.	Gramnegative Stäbchen.	B. coli.
47	Langer Appendix, durchgänglich, leicht entzündet, seröser Inhalt.	Gramnegative Kokken u. Diplokokken.	Steril.
48	Kurzer Appendix, durchgänglich, stark entzündet, viele Blutungen, blutig-eiteriger Inhalt.	Gramnegative u. positive Diplokokken u. Stäbchen.	B. coli, Staph. albus, B. pyocyaneus, B. faecalis alcalig.
49	Langer Appendix, durchgänglich, irgendwo kleine Blutungen, Kotmassen.	Grampositive u. negative Stäbchen u. Kokken.	B. coli, B. faecalis alcalig.
50	Kurzer Appendix, durchgänglich, leicht entzündet, Blutungen, serös-blutiger Inhalt.	Gramnegative Kokken u. Stäbchen.	B. coli, Staph. albus.

Appendicitis den Tuberkelbacillen zuzuschreiben. In 5 Fällen habe ich im Appendixinhalt Eier von Ascaris lumbricoides und in 3 Fällen die von Trichocephalus dispar gefunden. In diesen Fällen war von Mikroorganismen nur B. coli zu konstatieren. Da man dem B. coli die Hauptrolle in der Aetiologie der Appendicitis nicht zuschreiben konnte, so ist es sehr möglich, daß in diesen Fällen die Wurmeier den Anstoß zur Entzündung gegeben haben. Endlich habe ich in 3 Fällen im Lumen des Wurmfortsatzes Fremdkörper (Körnchen, Eisendraht) gefunden, die auch durch Trauma einen günstigen Boden für die Entzündung des Appendix geben konnten.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:24 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Auf Grund meiner Untersuchungen kann man folgende Schlüsse ziehen:

1) Die Aetiologie der Appendicitis ist recht mannigfaltig.

2) B. coli kann allein für sich, da es zu den gewöhnlichen Darmbakterien gehört, nicht die Ursache der Appendicitis sein.

3) Es können als Ursache der Appendicitis verschiedene pathogene Mikroorganismen, die auf die eine oder andere Weise in den Appendix von außen hineinkommen, dienen.

4) Es existiert sicher ein Zusammenhang zwischen den abgelaufenen Erkrankungen der Atmungsorgane und den nachfolgenden Entzündungen des Appendix.

5) Es ist möglich, daß Wurmeier und noch eher Würmer allein Anstoß zur Entzündung des Appendix geben können.

Nachdruck verboten.

Zur Schnellfärbung (Romanowsky-Färbung) von Trockenausstrichen.

[Aus dem Institut für Schiffs- und Tropenkrankheiten in Hamburg (Leiter: Prof. Dr. Nocht).]

Von **G. Giemsa.**

Mit 1 Textfigur.

Von den von mir angegebenen Färbemethoden zum Erzielen von Romanowsky-Bildern finden hauptsächlich zwei allgemeine Verwendung.

I. Die im Jahre 1904 (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 37. p. 308) beschriebene gewöhnliche Methode.

Bei ihr geht dem eigentlichen Färbeprozeß eine Fixierung des Präparates mit Alkohol, Methylalkohol usw. voraus, und erst nachher wird dieses mit der wasserverdünnten Farbstammlösung (10 Tropfen Farblösung auf 10 ccm dest. Wasser) $^1/_2$ Stunde lang gefärbt. Als Farbstammlösung dient eine Lösung von Azur II-Eosin 3 g, Azur II 0,8 g in einem Gemisch von Methylalkohol 375 g und Glyzerin 125 g[1]).

Fixierung und Färbung nehmen bei Methylalkohol- oder Acetonfixierung insgesamt 35 Minuten, bei Alkoholfixierung 50—60 Minuten in Anspruch.

II. Die 1910 (Münch. med. Wochenschr. No. 47. p. 2476) veröffentlichte Schnellfärbemethode.

Bei dieser erfolgt Härtung und Färbung (Vorfärbung) gleichzeitig durch ein frisch bereitetes Gemisch von gleichen Teilen der unter I beschriebenen Farbstammlösung und Aceton oder Methylalkohol[2]).

Man verfährt derart, daß man auf die Schichtseite des in einer kleinen Färbewanne liegenden lufttrockenen, unfixierten Objektträgerausstriches etwa 10 Tropfen der Farbstoff-Aceton-(Methylalkohol-)Mischung träufelt und diese $^1/_2$ Minute einwirken läßt, wobei das Präparat fixiert

1) Die fertige Lösung ist in Dr. Grüblers Laboratorium (Inhaber Dr. Karl Hollborn) in Leipzig unter dem Namen „Giemsas Lösung für die Romanowsky-Färbung“ zu haben.

2) Die Originallösung als solche kommt wegen des hohen Glyzeringehaltes, welcher das unfixierte Präparat schädigt, hierfür nicht in Betracht.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:24 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

und (diffus blauviolett) vorgefärbt wird. Hierauf wird dest. Wasser (10—12 ccm) hinzugegossen, so lange hin und her bewegt, bis dieses mit der Farblösung gut durchmischt ist und das Ganze 5—10 Minuten sich selbst überlassen. Nach Ablauf dieser Zeit, während welcher sich unter dem Einfluß des Wassers die typische Romanowsky-Färbung entwickelt hat, wird abgespült, abgetupft, getrocknet und eingebettet. Fixierung und Färbung dauern somit im ganzen etwa 11 Minuten.

Während die gewöhnliche, unter I beschriebene Methode bei sachgemäßer Anwendung (Ausführliches hierüber siehe in den entsprechenden Originalarbeiten) stets gute Resultate liefert, haften dem Schnellfärbeverfahren noch einige Mängel an, die unter Umständen zu Mißerfolgen führen können. Sie bestehen in folgenden Punkten:

1) Die Farbstammlösung büßt durch Verdünnen mit Aceton bzw. Methylalkohol an Farbkraft ein.

2) Aus diesem Grunde fixiert die methylalkoholische Mischung in der angegebenen Zeit nicht immer befriedigend, ein längeres Belassen auf dem Präparate ist aber nicht ratsam, weil dann infolge Verdunstung des leichtflüchtigen Methylalkohols und Wasseranziehung aus der Luft die Entstehung von sehr lästigen Farbstoffniederschlägen unvermeidlich ist.

3) Die acetonische Mischung hinwiederum hat zwar eine größere Fixierkraft und härtet in $^1/_2$ Minute hinreichend, muß aber wegen ihrer geringen Haltbarkeit (Aceton ist ein sehr schlechtes Lösungsmittel für den Farbstoff) möglichst vor jeder Färbung frisch bereitet werden, was ziemlich umständlich ist, weil hierzu stets saubere trockene Mischgefäße nötig sind.

Schon vor Veröffentlichung dieser Methode konnte ich feststellen, daß man bequemer und sicherer zum Ziele kommt, wenn man anstatt der vorgeschlagenen Lösung eine für die Schnellfärbung eigens hergestellte methylalkoholische Farbstammlösung mit maximalem Gehalt an Farbstoff und geringerem an Glyzerin benutzt. Eine solche Lösung hat neben der Annehmlichkeit der Haltbarkeit den weiteren Vorzug, daß sie infolge ihres hohen Farbstoffgehaltes sehr energisch fixiert. Daß letzterer bei der Fixierung eine bedeutsame Rolle spielt, kann man leicht konstatieren, indem man z. B. einen Blutausstrich mit einer derartigen Farblösung, einen zweiten mit einem entsprechenden farbstofffreien Methylalkohol-Glyzeringemisch (beide Male unter Nachfärbung in wässeriger Farbflotte) $^1/_2$ Minute lang behandelt. Während die Härtung im ersteren Falle ausgezeichnet ist, läßt sie in letzterem viel zu wünschen übrig.

Wenn ich trotz der Vorzüge derartiger Farblösungen bisher von deren Empfehlung Abstand nahm, so ließ ich mich hierbei lediglich von der Absicht leiten, mit einer einzigen Farbstammlösung, d. h. der unter I erwähnten auszukommen. Mißerfolge, welche ich vor einiger Zeit mit der acetonischen Verdünnung erlebte, und die nachweislich auf eine Zersetzung (Sauerwerden) des Acetons infolge Einflusses des Sonnenlichtes zurückzuführen waren, und welche befürchten ließen, daß man mit diesem Fehler namentlich in den sonnigen Tropen öfters zu rechnen haben würde, ließen es indessen ratsam erscheinen, diese Methode fallen zu lassen und sie durch eine andere zu ersetzen, unter Anwendung einer besonderen, alle erwähnten Fehler ausschließenden Farblösung.

Als am vorteilhaftesten erwies sich hierbei eine warm bereitete und nach Abkühlen und längerem Stehenlassen filtrierte Lösung von Azur II-Eosin 3 g, Azur II 0,3 g in Glyzerin 25 g + Methylalkohol 475 g[1]).

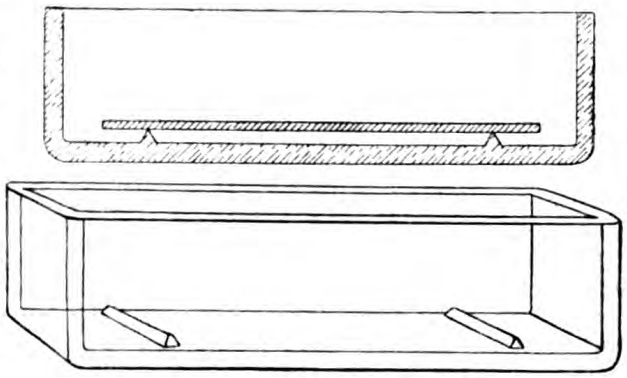
1) Diese dauernd haltbare Lösung ist gleichfalls bei Dr. Hollborn, und zwar unter dem Namen „Farbfixierlösung nach G." fertig zu haben.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:24 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Ausführung der Färbung:

1) Man legt den lufttrockenen, sehr dünnen Objektträgerausstrich mit der Schichtseite nach oben in ein trockenes, auf horizontaler Fläche stehendes Färbewännchen[1]) (s. Abbild.). Petri-Schalen haben sich für diese Art der Färbung als ungeeignet erwiesen.

2) Man träufelt aus einem Tropfgläschen so viel Farbfixierlösung auf das Präparat, bis die Schichtseite hiermit völlig benetzt ist (8—10—15 Tropfen, je nach Größe der Tropfen und Ausdehnung der Schicht), wobei ein Hinüberfließen der Lösung über den Objektträgerrand zu vermeiden ist, deckt die Wanne mit einer Glasscheibe zu und läßt $^1/_2$, keinesfalls aber länger als 1 Minute einwirken. Liegt der Objektträger nicht horizontal, d. h. fließt die Farblösung nach einer Seite hin, so ist durch sanftes Hinundherbewegen der Wanne oder durch Korrektion ihrer Lage für eine gleichmäßige Verteilung der Lösung zu sorgen.



3) Darauf gießt man eine inzwischen in weitem Meßzylinder bereitete Mischung von 10 ccm dest. Wasser mit 10 Tropfen der „Farbfixierlösung" oder der unter I genannten gewöhnlichen Farblösung in das Färbewännchen, so daß der Objektträger nunmehr ganz unter Flüssigkeit taucht, bewirkt durch sofortiges Hinundherschwenken des Behälters ein völlig homogenes Durchmischen der beiden Farbflüssigkeiten und stellt das Ganze 10 Minuten ruhig beiseite.

4) Nunmehr wird in Wasser abgespült, abgetupft, getrocknet und in flüssigem Paraffin (vgl. Giemsa, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 70. 1913. p. 444) oder säurefreiem Balsam[2]) eingebettet.

Wie man aus der Vorschrift ersieht, unterscheidet sich die neue Schnellfärbemethode von der früheren nicht allein durch die verwendete neue Farblösung, sondern weiterhin dadurch, daß man das auf den Objektträger geträufelte Farbfixativ nicht wie früher mit Wasser allein, sondern mit einer wasserverdünnten, stark übersättigten Farblösung vermischt. Durch diese Anordnung wird vermieden, daß dem vorgefärbten Präparat, wie es früher unter dem Einfluß bloßen Wassers geschah, wieder Farbstoff entzogen wird, so daß nunmehr wesentlich farbkräftigere Bilder als bisher erzielt werden. Eine ganz auffallend gute Konservierung und Differenzierung weisen hierbei auch die Granulationen der Protisten und Blutzellen auf, so daß die Methode auch den Hämatologen willkommen sein wird.

Der einzige Nachteil, welcher allen Intensivfärbemethoden, so auch dieser anhaftet, ist der, daß sich bei dick geratenen Ausstrichen das seröse Substrat bisweilen etwas mitfärbt. Aus diesem Grunde ist für recht dünne Ausstriche Sorge zu tragen. Bei manchem dick ausgestrichenen Material

1) Dieselben werden nach meinen Angaben von Carl Zeiss, Optische Werkstätten, Jena, angefertigt und sind unter dem Namen „Färbewännchen für die Schnellfärbung nach G." zu verlangen.

2) Herr Dr. K. Hollborn, Leipzig, hat mir vor längerer Zeit einen derartigen besonders präparierten „Neutralbalsam" zur Verfügung gestellt, der sich im Gegensatz zu dem gewöhnlichen Balsam auch bei Romanowsky-Präparaten gut zu bewähren scheint.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:24 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

kann man diesem Uebelstande wirksam begegnen, indem man das lufttrockene Präparat 1 Minute in dest. Wasser oder physiologische Kochsalzlösung legt und es dann nochmals trocken werden läßt, bevor man zur Färbung schreitet. Bei dieser Prozedur pflegen die serösen Bestandteile in Lösung zu gehen, während die korpuskulären Elemente erhalten bleiben. Spirochäten kommen hierbei besonders schön zum Ausdruck.

Wie bereits erwähnt, hat sich mir die angegebene Farblösung bei dieser Art der Schnellfärbung am besten bewährt. Damit soll keineswegs gesagt sein, daß man mit gewissen Variationen hinsichtlich Zusammensetzung der Farblösung und hinsichtlich der Färbevorschrift nicht auch zum Ziele kommen kann. Auf derartige Variationsmöglichkeiten habe ich ja bereits in meinen ersten, grundlegenden Publikationen über die modifizierte Romanowsky-Färbung hingewiesen, und von ihnen ist auch schon von verschiedener Seite, wenn auch nicht gerade immer in sehr zweckentsprechender Weise, Gebrauch gemacht worden. So kann z. B. eine Verschiebung in dem Verhältnisse zwischen Azur-Eosin und Methylenblau-Eosin (Azur II-Eosin besteht aus gleichen Teilen dieser beiden Komponenten) für gewisse Spezialstudien von Vorteil sein. Unter Umständen kann sogar mit methylenblaufreiem Azur-Eosin oder mit azurfreiem Methylenblau-Eosin vorgefärbt und fixiert werden. Letztere Modifikation wird z. B. von Pappenheim als sogenannte May-Giemsa-Färbung namentlich für hämatologische Zwecke empfohlen. Immerhin wird allen denen, welche mit den Eigentümlichkeiten dieser Farbstoffe und Färbung nicht sehr vertraut sind, auf das Entschiedenste zu raten sein, sich an bestimmte, erprobte Vorschriften zu halten, um so mehr als Abweichungen von ihnen bisweilen zu Bildern führen, welche mit dem typischen Romanowsky-Bild wenig oder gar keine Aehnlichkeit mehr zeigen und die Deutung fraglicher Zellgebilde unnötig erschweren.

Zur Herstellung von Romanowsky-Ausstrichpräparaten, welche mit Alkohol usw. vorgehärtet sind, namentlich aber zur entsprechenden Darstellung von Feuchtpräparaten und Schnitten eignet sich besser die unter I erwähnte gewöhnliche Farblösung mit ihrem einer längeren Färbedauer Rechnung tragenden größeren Gehalt an basischem Farbstoff und Glyzerin.

Herrn Oberarzt Härpfer, welcher sich der Mühe unterzog, die neue Schnellfärbemethode an einem sehr reichhaltigen Malariamaterial praktisch zu erproben und hierbei die gute Leistungsfähigkeit, besonders auch gegenüber jahrelang über Chlorcalcium aufbewahrte Material feststellen konnte, sage ich für seine wertvolle Unterstützung meinen verbindlichsten Dank.

Zusammenfassung.

Mit Hilfe einer besonders zusammengesetzten (haltbaren) Farblösung, welche zugleich härtet und färbt (sogenannte Farbfixierlösung) lassen sich bei unfixierten Trockenausstrichen innerhalb 11 Minuten außerordentlich farbkräftige Romanowsky-Bilder erzielen unter sehr guter Erhaltung und Differenzierung der verschiedenen Zellgranula. Die Färbung ist in eigens hierfür konstruierten Färbewannen vorzunehmen.

Inhalt.

Eisenberg, Philipp, Untersuchungen über die Variabilität der Bakterien, p. 449.
Giemsa, G., Zur Schnellfärbung (Romanowsky-Färbung) von Trockenausstrichen, p. 493.
Isabolinsky, M., Zur Bakteriologie der Appendicitis, p. 488.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:25 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Centralbl. f. Bakt. etc. I. Abt. Originale. Bd. 73. Heft 8.

Inhaltsverzeichnis.

I. Verzeichnis der in Band 73 enthaltenen Arbeiten.

Aoki, K., Ueber den Wirkungsmechanismus des Pneumokokkenkulturfiltrates auf Meerschweinchen und Mäuse. 297

Bahr, L., Einige Virulenzversuche mit Mereshkowskys Hühnereiweißdekokt. 143

Bessau, Georg, Zur Kritik der Friedbergerschen Anschauungen über die Doppelfunktion des Ambozeptors. 181

Bornand, M., Contribution à l'étude du Bacterium salmonicida. 355

Busson, Bruno, Ueber Paragglutination. 328

Carpano, Matteo, Kultur der Pferdepiroplasmen und Betrachtung über die Natur der Anaplasmen. 42

—, Piroplasmosis equina. Parasitentypen. 13

Ciaccia, Matteo, Pathologisch-anatomische Beobachtungen über einige Fälle von Cholera asiatica. 161

Daniélopolu, D., Recherches sur l'étiologie du rhumatisme polyarticulaire aigu. 353

Donges, Ueber polyvalente Typhussera mit Beziehung zur Agglutination und Bakterizidie in vitro. 188

Dudtschenko, J. S., Beiträge zur Frage der Eosinophilie. 72

Eisenberg, Philipp, Untersuchungen über die Variabilität der Bakterien. III. Mitteilung. Weitere Untersuchungen über das Sporenbildungsvermögen bei Milzbrandbacillen. 81

—, Untersuchungen über die Variabilität der Bakterien. IV. Mitteilung. Ueber den Variationskreis des B. prodigiosum und B. violaceum. 449

Fülleborn, Friedrich, Zur Technik der Mikrofilarienfärbung. 427

Galli-Valerio, B., Smithia talpae n. sp. (Piroplasmidae) chez Talpa europaea L. 142

Giemsa, G., Zur Schnellfärbung (Romanowsky-Färbung) von Trockenausstrichen. 493

Giglioli, Italo, Bemerkungen zu der neuesten Mitteilung Noguchis: Ueber künstliche Züchtung des Lyssavirus. 350

Gózony, L., Die Abderhaldensche Reaktion bei protozoischer und metazoischer Parasiteninfektion. 345

Grote, L. R., Zur Kritik der Säureausausflockung nach Michaelis. 202

Henningfeld, Fr., Ueber die Isolierung einzelner Trypanosomen. 228

v. Heydenreich, L., Ein Thermoregulator mit Wasser für Thermostaten. 444

Himmelberger, L. R., Studies in avian tuberculosis. 1

Hoepke, Hermann s. **Landois, Felix.**

Horton, George D. s. **Rettger, Leo F.**

Huntemüller, Neuartige Parasitenbefunde bei der Jerichobeule. 137

Ingram, G. L. Y. s. **Twort, F. W.**

Isabolinsky, M., Zur Bakteriologie der Appendicitis. 488

— und **Smoljan, L.,** Ueber die Wirkung einiger Anilinfarbstoffe auf Bakterien. Nebst einem Beitrag über die Farbstofffestigkeit der Bakterien. 413

Katsurada, F., Studien über Trematodenlarven bei Süßwasserfischen, mit besonderer Berücksichtigung der Elb- und Alsterfische. Vorläufige Mitteilung. 304

Klimenko, W. N., Zum Befunde choleraähnlicher Vibrionen bei Kindern. 127

Koenigsfeld, Harry, Ueber Versuche zur Immunisierung gegen Mäusekrebs. 316

Konrádi, Daniel, Die Vererbung der Wut. Dritte Mitteilung. 287

Kozewalow, S., Zur Virulenz des fixen Virus der Tollwut für den Menschen. 54

Kritschewsky, J. L., Apparate vom Typus „Thermos" als Thermostate. 77

Landois, Felix und **Hoepke, Hermann,** Eine endoparasitäre Milbe in der Lunge von Macacus rhesus. 384

v. Linstow, Trichosoma tuberculatum n. sp. 395

Linton, Edwin, Note on Distomum trachinoti Mac Callum. 54

Manoiloff, E., Weitere Untersuchungen über chronischen Alkoholismus und Anaphylaxie. 314

Markl, Kasuistischer Beitrag zur Rattenpest. 135

Michin, N., Ueber die Serodiagnose der Rotzkrankheit mittels der Konglutininreaktion. 223

Mitra, Satyendra Nath, On a peculiar Form of Pasteurella in an Indian Elephant. 12

Nawrotzky, N. N., Hämatoparasitologische Notizen. Zweite Mitteilung. 358

Ogata, M. und **Takenouchi, M.,** Einfache Plattenkulturmethode der anaëroben Bakterien. 75

Patai, Joseph August s. **Rosenthal, Eugen.**

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:24 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Pitschugin, P. J., Kultivierungsversuche mit Plasmodium vivax nach der Methode von Bass. 373
Reichstein, Stefanie, Ueber den Nachweis der Streptokokken im strömenden Blute. 209
Rettger, Leo F. and **Horton, George D.,** A comparative study of the intestinal flora of white rats kept on experimental and ordinary mixed diets. 362
Rosenow, E. C., Wechselseitige Mutation von Pneumokokken und Streptokokken. 284
Rosenthal, Eugen u. Patai, Joseph August, Ueber die proteolytische Aktivität von Streptokokken-, Staphylokokken- und Coli-Kulturen. 406
Rotky, Karl, Ueber die Wirkung von Saponin als Zusatz zu Desinfektionsmitteln. 195
Russ, V. K., Beobachtungen über das epidemische Auftreten von Darmkatarrhen und Typhus abdominalis. 169
Schiller, Ignace, Sur les produits des microbes en association. 123
Schulze, Eine Nachprüfung des von Conradi angegebenen Oeltupferverfahrens zum Nachweis von Diphtheriebacillen. 148
Skrjabin, K. J., Vergleichende Charakteristik der Gattungen Chapmania Mont. und Schistometra Cholodk. 397
Smoljan, L. s. **Isabolinsky, M.**
Takenouchi, M. s. **Ogata, M.**
Toenniessen, Erich, Ueber Vererbung und Variabilität bei Bakterien mit besonderer Berücksichtigung der Virulenz. 241
Twort, F. W. and **Ingram, G. L. Y.,** Further experiments on the biology of Johne's bacillus. 277

II. Sachverzeichnis.

Abderhaldens Reaktion bei protozoischer und metazoischer Parasiteninfektion. 345
Acipenser ruthenus, Haemogregarina accipenseris in demselben. 360
— —, Trichosoma tuberculatum im Darme desselben. 395
Agglutination choleraähnlicher Vibrionen. 130
—, Par-, 328
— durch polyvalentes Typhusserum. 188
Aggressin, Pneumokokken-, Wirkungsmechanismus. 297
Alkoholismus und Ueberempfindlichkeit. 314
Alsterfische, Trematodenlarven bei denselben. 304
Ambozeptor, Doppelfunktion (Kritik der Friedbergerschen Anschauungen). 181
Anaphylaxie s. Ueberempfindlichkeit.
Anaplasmen, Natur derselben. 47
Anilinfarben, Wirkung auf Bakterien. 413
Anilinum purum, Wirkung auf Bakterien. 420
Appendicitis, Bakteriologie. 488
Ardea alba, Filaria ardeae in derselben. 361
Argentum nitricum als Desinfektionsmittel, Wirkung von Saponin. 198
Ausflockung, Säure-, nach Michaelis, Kritik. 202
Ausstriche, Trocken-, Schnellfärbung (Romanowsky). 493
Babesia caballi, Beschreibung, Morphologie. 18
— —, Blutveränderungen. 25
— —, Kultur. 44
— —, Reproduktionsprozeß. 22
— —, Systematisches. 37
— —, Uebertragung. 25
Bacillus acidophilus, Vorkommen im Darme. 363
— anthracis, Sporenbildung. 81
— —, Variation. 82
— —, Wirkung von Anilinfarben. 416
— bifidus, Vorkommen im Darme. 363
— coli bei Appendicitis. 490
— — -Kulturen, proteolytische Aktivität. 406
— —, Paragglutination. 328
— —, Wirkung von Anilinfarben. 419
— Danysz, Virulenzerhaltung auf Mereshkowskys Hühnereiweißdekokt. 144
— diphtheriae s. a. Diphtherie.
— —, Nachweis mittels Oeltupferverfahrens von Conradi. 148
— dysenteriae, Paragglutination. 328
— exilis, Vorkommen im Darme. 363
— faecalis alcaligenes bei Appendicitis. 490
— Johnes, Biologie. 277
— lactis aërogenes, Vorkommen im Darme. 363
— perfringens, Vorkommen im Darme. 363
— pneumoniae, Fluktuation. 260
— —, Morphologie. 250. 253
— —, Mutation. 255. 466
— —, Variation. 252
— —, Vererbung. 252
— —, Virulenz. 267
— prodigiosus s. Bacterium prodigiosum.
— putrificus, Vorkommen im Darme. 363
— pyocyaneus bei Appendicitis. 491
— tuberculosis s. a. Tuberkulose.
— — der Vögel, Agglutination. 9
— typhi s. a. Typhus abdominalis.
— —, Agglutination. 188
— —, Variation. 473
— —, Wirkung von Anilinfarben. 417
— — mutabilis, Untersuchungen. 473

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:24 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Bacillus violaceus s. Bacterium violaceum.
Bacterium fluorescens, Mutation. 466
— —, Variation. 466
— prodigiosum, Variationskreis. 449
— salmonicida, Morphologie, Kulturelles. 355
— violaceum, Variationskreis. 459
Bakterien, anaërobe, Plattenkulturmethode. 75
—, Farbstofffestigkeit. 424
— -Flora des Darmes bei weißen Ratten unter experimentellen und gewöhnlichen Ernährungsbedingungen. 362
—, Fluktuation. 248
—, kapselbildende, Variation. 471
—, Kombination. 248
—, Modifikation. 248. 449
—, Mutation. 248. 284. 449
— -Produkte, Bildung in Gegenwart anderer Bakterien. 123
—, Toxinbildung. 123
—, Variation. 81. 241. 248. 284. 449. 471
—, Vererbung. 106. 241
—, Virulenz. 267
—, Virulenzversuche mit Mereshkowskys Hühnereiweißdekokt. 143
—, Wirkung von Anilinfarben. 413
—, Wirkung von Anilinum purum. 420
Bakterizidie durch Bakterienprodukte. 124
— durch polyvalentes Typhusserum. 188
Beule, Jericho- s. Jerichobeule.
Blut, Eosinophilie. 72
—, Streptokokkennachweis im strömenden. 209
Cercarien bei Süßwasserfischen. 306
Chapmania monticelli, Beschreibung. 398
— tapika, Beschreibung, Vorkommen. 399
— tauricollis, Beschreibung, Vorkommen. 398
Cholera s. a. Vibrio cholerae.
— asiatica, pathologisch-anatomische Beobachtungen. 161
—, Diagnose, bakteriologische. 134
Darm-Bakterienflora von weißen Ratten unter experimentellen und gewöhnlichen Ernährungsbedingungen. 362
—, choleraähnliche Vibrionen in demselben bei Kindern. 127
— -Katarrhe, epidemisches Auftreten. 169
—, Trichosoma tuberculatum n. sp. in demselben bei Acipenser ruthenus. 395
Desinfektionsmittel, Wirkung von Saponin. 195
Dialysierverfahren Abderhaldens bei protozoischer und metazoischer Parasiteninfektion. 345
Diphtherie s. a. Bacillus diphtheriae.
—, Diagnose, bakteriologische. 148
Diplococcus lanceolatus s. Pneumococcus und Bacillus pneumoniae.
— — bei Appendicitis. 490
Diplokokken, Vorkommen im Darme. 363
Distomiasis der Schafe, Abderhaldens Reaktion. 347
Distomum trachinoti Mac Callum, Bemerkung. 54
Eiweißdekokt, Hühner-, nach Mereshkowsky zur Virulenzerhaltung. 143
Elbfische, Trematodenlarven bei denselben. 304
Elefant, Pasteurellosis. 12
Enzyme, proteolytische, von Bac. coli. 406
—, —, von Staphylokokken. 406
—, —, von Streptokokken. 406
Eosin, Wirkung auf Bakterien. 415
Eosinophilie. 72
Ernährung, Einfluß auf die Darm-Bakterienflora bei weißen Ratten. 362
Eupodotis kori, Wirt von Schistometra conoides. 402
Färbung der Mikrofilarien, Technik. 427
—, Schnell- (Romanowsky) von Trockenausstrichen. 493
Farben, Anilin- s. Anilinfarben.
Farbstoff-Festigkeit der Bakterien. 424
Fasciola hepatica, Abderhaldens Reaktion. 347
Filaria s. a. Microfilaria.
Filaria ardeae n. sp., Beschreibung. 361
— der Saatkrähe, Beschreibung. 361
Filarien, Färbung. 427
Fische, Süßwasser-, Trematodenlarven bei denselben. 304
Fluktuation bei Bakterien. 248
Forellen, Furunkulose, durch Bact. salmonicida verursacht. 355
Formaldehyd als Desinfektionsmittel, Wirkung von Saponin. 201
Fuchsin, Wirkung auf Bakterien. 415
Furunkulose der Forellen, durch Bact. salmonicida verursacht. 355
Gelenkrheumatismus, Aetiologie. 353
Gentianaviolett, Wirkung auf Bakterien. 415
Haemogregarina acipenseris n. sp., Beschreibung. 360
— esocis n. sp., Beschreibung. 360
Hämolyse durch Streptokokken. 219
Hecht, Haemogregarina esocis in demselben. 360
—, Trypanoplasma desselben. 359
—, Trypanosomiasis. 358
Hefen, Vorkommen im Darme. 363
Hühner-Eiweißdekokt Mereshkowskys zur Virulenzerhaltung. 143
— -Spirochätose, Abderhaldens Reaktion. 347
Hydrargyrum oxycyanatum als Desinfektionsmittel, Wirkung von Saponin. 198
Idiogeninae, Beschreibung. 398
Jerichobeule, durch Plasmosoma Jerichoense verursacht. 140
Immunisierung gegen Mäusekrebs. 316
— gegen Typhus abdominalis. 188
— gegen Wut. 54
Kälber, Infektion mit Vogeltuberkulose. 4
Kalilauge als Desinfektionsmittel, Wirkung von Saponin. 197
Kaninchen, Infektion mit Vogeltuberkulose. 4
—, Streptokokkensepsis. 211
Kapsel-Bakterien, Variation. 471

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:24 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Karbolsäure als Desinfektionsmittel, Wirkung von Saponin. 199
Katarrhe, Darm- s. Darm-Katarrhe.
Kombination bei Bakterien. 248
Komplementbindung mit choleraähnlichen Vibrionen. 132
Konglutininreaktion zur Rotzdiagnose. 223
Krähe, Microfilaria in derselben. 361
Krebs, Mäuse-, Immunisierung. 316
Kristallviolett, Wirkung auf Bakterien. 415
Larven, Trematoden-, bei Süßwasserfischen. 304
Leberegelkrankheit der Schafe, Abderhaldens Reaktion. 347
Lunge, Pneumotuber macaci in derselben. 388
Lysol als Desinfektionsmittel, Wirkung von Saponin. 200
Lyssa s. Wut.
Macacus rhesus, Pneumotuber macaci in der Lunge desselben. 388
Mäuse-Krebs, Immunisierung. 316
—, Wirkungsmechanismus des Pneumokokkenkulturfiltrates. 297
Malachitgrün, Wirkung auf Bakterien. 415
Meerschweinchen, Infektion mit Vogel-Tuberkulose. 4
—, Wirkungsmechanismus des Pneumokokkenkulturfiltrates. 297
Methylenblau, Wirkung auf Bakterien. 415
Methylviolett, Wirkung auf Bakterien. 415
Metorchis oesophagolongus n. sp., Entwickelungskreis. 310
Microfilaria s. a. Filaria.
— immitis, Färbung. 428
Milben, endoparasitäre. 384
Modifikation bei Bakterien. 248. 449
Mutation bei Bac. typhi. 473
— bei Bact. pneumoniae. 255. 466
— bei Bakterien. 248. 284. 449
Nuttallia equi, Beschreibung, Morphologie. 14
— —, Blutveränderungen. 18
— —, Kultur. 45
— —, Reproduktionsprozeß. 16
— —, Systematisches. 37
— —, Uebertragung. 25
Odorit als Desinfektionsmittel, Wirkung von Saponin. 201
Oeltupferverfahren Conradis zum Nachweis von Diptheriebacillen. 148
Otiditaenia s. Schistometra.
Otis arabs, Wirt von Schistometra conoides. 402
— tarda, Wirt von Schistometra conoides. 402
— tetrax, Wirt von Chapmania tapika. 399
Paracoenogonimus ovatus n. sp., Entwickelungskreis. 313
Paragglutination. 328
Pasteurellosis beim Elefanten. 12
Pest der Ratten. 135
Pferde, Piroplasmosis. 13
Piroplasmen, Kultur. 42
—, Systematik. 37
Piroplasmosis equina. 13
Plasmodium vivax, Entwickelung. 377
— —, Färbung. 376
— —, Kultur nach Bass. 373
Plasmosoma Jerichoense n. sp., Erreger der Jerichobeule, Beschreibung. 140
Platten-Kultur-Methode der anaëroben Bakterien. 75
Pneumococcus-Kulturfiltrat, Wirkungsmechanismus auf Meerschweinchen und Mäuse. 297
—, Transformation von Streptokokken in denselben. 284
—, Wirkung von Anilinfarben. 419
Pneumotuber macaci n. sp., Beschreibung, Vorkommen in der Lunge. 388
Polyarthritis rheumatica, Aetiologie. 353
Proteolyse durch Bac. coli-Kulturen. 406
— durch Staphylokokken-Kulturen. 406
— durch Streptokokken-Kulturen. 406
Pyoctanin, Wirkung auf Bakterien. 415
Ratin, Virulenzerhaltung auf Mereshkowskys Hühnereiweißdekokt. 144
Ratten, Infektion mit Vogel-Tuberkulose. 4
— -Pest. 135
Regulator, Thermo-, mit Wasser für Thermostaten. 444
Reiher s. Ardea.
Rhea americana, Wirt von Chapmania tauricollis. 398
Rotz, Serumdiagnose mittels Konglutininreaktion. 223
Saatkrähe, Filaria in derselben. 361
Säureausflockung nach Michaelis, Kritik. 202
Safranin, Wirkung auf Bakterien. 415
Salzsäure als Desinfektionsmittel, Wirkung von Saponin. 196
Saponin, Wirkung als Zusatz zu Desinfektionsmitteln. 195
Sarcina tetragena, Variation. 472
—, Vorkommen im Darme. 363
Sarcosporidiasis, Abderhaldens Reaktion. 347
Schafe, Distomiasis, Abderhaldens Reaktion bei derselben. 347
Schistometra conoides, Beschreibung, Vorkommen. 402
— togata s. Schistometra conoides.
Schnellfärbung (Romanowsky) von Trockenausstrichen. 493
Sepsis, Streptokokken-, beim Kaninchen. 211
Serumdiagnose des Rotzes mittels Konglutininreaktion. 223
Smithia talpae n. sp., Beschreibung, Vorkommen im Blute von Talpa europaea. 142
Spirochätose, Hühner-, Abderhaldens Reaktion. 347
Sporen, Bildung bei Bac. anthracis. 81
Staphylococcus pyogenes albus bei Appendicitis. 490
— — aureus bei Appendicitis. 490
— — —, Wirkung von Anilinfarben. 415
Staphylokokken-Kulturen, proteolytische Aktivität. 406

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:24 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Staphylokokken, Vorkommen im Darme. 363
Sterlet s. Acipenser ruthenus.
Streptococcus bei Appendicitis. 490
— haemolyticus, Transformation in Pneumococcus. 284
Streptokokken, Hämolyse. 219
— -Kulturen, proteolytische Aktivität. 406
—, Mutation. 284
—, Nachweis im strömenden Blute. 209
— -Sepsis beim Kaninchen. 211
—, Transformation in Pneumokokken. 284
—, Vorkommen im Darme. 363
Sublimat als Desinfektionsmittel, Wirkung von Saponin. 198
Süßwasserfische, Trematodenlarven bei denselben. 304
Talpa europaea, Smithia talpae n. sp. im Blute derselben. 142
Thermoregulator mit Wasser für Thermostaten. 444
Thermos-Apparate als Thermostate. 77
Thermostat, Thermoregulator mit Wasser für denselben. 444
—, Thermos-Apparate als Thermostate. 77
Thionin, Wirkung auf Bakterien. 415
Tollwut s. Wut.
Toxin, Bildung durch Bakterien. 123
Trematoden, Biologie. 304
— -Larven bei Süßwasserfischen. 304
Trichinose, Abderhaldens Reaktion. 348
Trichosoma tuberculatum n. sp., Beschreibung, Vorkommen. 395
Trockenausstriche, Schnellfärbung. 493
Trypanoplasma des Hechtes. 359
Trypanosoma s. a. Trypanosomen.
Trypanosoma brucei-Infektion, Abderhaldens Reaktion. 346
— —, Isolierung. 232
— congolense-Infektion, Abderhaldens Reaktion. 346
— equinum-Infektion, Abderhaldens Reaktion. 346
— equiperdum-Infektion, Abderhaldens Reaktion. 346
— —, Isolierung. 232
— des Hechtes, Beschreibung. 358
— lewisi-Infektion, Abderhaldens Reaktion. 346
— remaki, Beschreibung. 358
Trypanosoma theileri, Isolierung. 236
Trypanosomen s. a. Trypanosoma.
Trypanosomen, Infektionsversuche mit je einem Trypanosoma. 232
—, Isolierung einzelner. 228
—, Kultur. 236
Tuberkulose s. a. Bacillus tuberculosis.
— der Vögel. 1
— der Vögel, Agglutinationsversuche. 9
Tupferverfahren, Oel-, Conradis, zum Nachweise von Diphtheriebacillen. 148
Typhus abdominalis s. a. Bacillus typhi.
— —, epidem. Auftreten. 169
— —, Immunisierung. 188
— —-Sera, polyvalente, mit Beziehung zur Agglutination und Bakterizidie. 188
Ueberempfindlichkeit und Alkoholismus. 314
—, Theorie. 181
Vaccination gegen Wut. 54
Variation bei Bac. anthracis. 82
— bei Bac. typhi. 473
— bei Bact. fluorescens. 466
— bei Bact. pneumoniae. 466
— des Bact. prodigiosum. 449
— bei Bact. violaceum. 459
— bei Bakterien. 81. 241. 248. 284. 449. 471
— bei Sarcina tetragena. 472
Vererbung bei Bakterien. 106. 241
Vibrio cholerae s. a. Cholera.
— —-ähnliche Vibrionen, Agglutination. 130
— —-ähnliche Vibrionen im Darme bei Kindern. 127
— —-ähnliche Vibrionen, Komplementbindung. 132
— —, Wirkung von Anilinfarben. 418
Virulenz. 267
Vogeltuberkulose. 1
—, Agglutinationsversuche. 9
Wut, Immunisierung. 54
—, Vererbung. 287
—-Virus, Filtrierbarkeit. 350
—-—, fixes, Virulenz für den Menschen. 54
—-—, Uebergang von Mutter auf Foetus. 295
—-—, Züchtung, künstliche. 350

III. Verzeichnis der Abbildungen.

Araber, Jerichobeulen. 138
Babesia caballi, Kultur, Morphol., Reproduktion. (Taf.) 41. 53
Bacillus pneumoniae, Fluktuation. (Taf. II.) 277
— —, Modifikation. (Taf. I. II.) 276
— —, Mutation. (Taf. I, II.) 276
— —, Variation. (Taf. I, II.) 276
Bakterien, anaërobe, Plattenkulturmethode. 76. 77
Bakterien, Fluktuation. (Taf. II.) 277
—, Modifikation. (Taf. I, II.) 276
—, Mutation. (Taf. I, II.) 276
—, Variation. (Taf. I, II.) 276
Beule, Jericho- s. Jerichobeule.
Cercarien bei Süßwasserfischen. 307. 308. 311
Chapmania tapika, Proglottis. (Taf., Fig. 5, 7, 10.) 405
— —, Querschnitt. (Taf., Fig. 11.) 405

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:24 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Chapmania tapika, Skolex. (Taf., Fig. 2.) 405
— —, Strobila. (Taf., Fig. 10.) 405
— tauricollis, Proglottis. (Taf., Fig. 4, 8, 10.) 405
— —, Skolex. (Taf., Fig. 1.) 405
— —, Strobila. (Taf., Fig. 10.) 405
Ei von Metorchis oesophagolongus. (Taf., Fig. 11.) 314
— von Paracoenogonimus ovatus. (Taf., Fig. 13.) 314
— von Trichosoma tuberculatum. 396
Elefant, Pasteurellose, Kultur. 12
Färbewännchen für Schnellfärbung nach Giemsa. 495
Filaria s. a. Microfilaria.
Filaria ardeae n. sp. (Taf., Fig. 13, 14.) 358
Fluktuation bei Bakterien. (Taf. II.) 277
Gelenkrheumatismus, bakteriol. u. mikrosk. Untersuchungen. (Taf.) 354
Haemogregarina acipenseris n. sp. (Taf., Fig. 7—12.) 358
Jerichobeule bei einem Araber. 138
—, Histol. u. Parasiten. (Taf. I—III.) 141
Kalb, Infektion mit Vogeltuberkulose, Lymphdrüsenschnitt. (Taf., Fig. 3.) 11
Kanalisation der Kaserne in Brod a. d. Save. 178
Kaserne zu Brod a. d. Save, Kanalisation. 178
Kulturmethode, Platten-, anaërober Bakterien. 76. 77
Lunge, Pneumotuber macaci in derselben. 388. 389
Metorchis oesophagolongus und Ei desselb. (Taf., Fig. 10, 11.) 314
Microfilaria s. a. Filaria.
Microfilaria immitis, Färbung. (Taf. I, II.) 428. 429
Modifikation bei Bakterien. (Taf I, II.) 276
Mutation bei Bakterien. (Taf. I, II.) 276
— bei Pneumokokken. (Taf. II.) 287
— bei Streptokokken. (Taf. I, II.) 287
Nuttallia equi, Morpholog., Reproduktion. (Taf.) 41. 53
Paracoenogonimus ovatus und Ei. (Taf., Fig. 12, 13.) 314
Pasteurella aus einem Elefanten, Kultur. 12
Plasmosoma Jerichoense n. sp., Morphol. usw. (Taf. II, III.) 141
Plattenkulturmethode anaërober Bakterien. 76. 77
Pneumokokken, Mutation. (Taf. II.) 287
Pneumotuber macaci n. sp. (Taf.) 391
— — — in den Lungen von Macacus rhesus. 388. 389
Polyarthritis rheumatica, bakteriolog. und mikroskop. Untersuchungen. (Taf.) 354
Schistometra togata. (Taf., Fig. 10, 12.) 405
— —, Proglottis. (Taf., Fig. 6, 9, 10.) 405
— —, Skolex. (Taf., Fig. 3.) 405
Schnellfärbung von Trockenausstrichen, Färbewännchen. 495
Smithia talpae n. sp., Beschreibung. 142
Streptokokken, Mutation. (Taf. I, II.) 287
Thermoregulator mit Wasser für Thermostaten. 446
Thermos-Apparate als Thermostate. 78. 79
Thermostat, Thermoregulator mit Wasser für denselben. 446
Thermostate, Thermos-Apparate als Th. 78. 79
Trematodenlarven bei Süßwasserfischen. 307—309. 311
Trichosoma tuberculatum n. sp. und Ei. 396
Trypanoplasma des Hechtes. (Taf., Fig. 3 bis 6.) 358
— des Hechtes. (Taf., Fig. 1, 2.) 358
Tuberkulose, Vogel-, bakteriol. und histol. Präparate. (Taf.) 11
Variation bei Bakterien. (Taf. I, II.) 276
Vogeltuberkulose, bakteriol. und histolog. Präparate. (Taf.) 11
Wännchen, Färbe-, für Schnellfärbung nach Giemsa. 495

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena. — 4412

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:25 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

589.05
CE
ser 1
Bd 73
No 7
589.05
(43)
1

CENTRALBLATT

für

Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten

Erste Abteilung:

Mediz.-hygien. Bakteriologie u. tier. Parasitenkunde

Originale

In Verbindung mit

Geh. Obermed.-Rat Prof. Dr. Loeffler,
Direktor d. Kgl. Instituts für Infektionskrankheiten „Robert Koch", Berlin.

Geh. Med.-Rat Prof. Dr. R. Pfeiffer, Breslau
Geh. Reg.-Rat Prof. Dr. M. Braun, Königsberg i. Pr.

herausgegeben von

Geh. Reg.-Rat Prof. Dr. O. Uhlworm, Berlin W. 15, Hohenzollerndamm 4II
und
Geh. Reg.-Rat Dr. A. Weber, Berlin SW. 29, Belle Alliancestraße 39

Verlag von Gustav Fischer in Jena

73. Bd. Jena, den 2. Mai 1914. Heft 7

Preis für den Band (etwa 50 Bogen) 15 Mark. Schwierige Tafeln werden einem Bogen gleich gerechnet. — Die Nummern erscheinen zwanglos je nach dem vorliegenden Stoffe.



D. R. P. Ausl. Pat.

Prof. Dr. Doerr's

Patentinhaber **Fritz Bramigk**

Trockennährböden

geben durch Lösen in der entspr. Menge Wasser den gebrauchsfertigen Nährboden.

Prospekte gratis.

Azurblaulösung „Bram"

Gibt hervorragende **Romanowski-Giemsa-Färbung.** Ohne Sediment und haltbar.

Name gesetzlich geschützt.

MAY 26 1914

Generated on 2019-09-15 15:25 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Digitized by Google

Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Röntgenaufnahmen
macht man am bequemsten mit einem unzerbrechlichen Material, dem viel billigeren als Trockenplatten, hochempfindlichen
Röntgenpapier Marke NPG

Abzüge von Röntgenaufnahmen
die sich durch Wiedergabe auch der zartesten Details auszeichnen sollen, kopiert man am besten und raschesten auf Bromsilberpapier
Bromaryt Marke NPG

Röntgen-Photographien für Werke
auch in den größten Auflagen absolut gleichmäßig in anerkannt vorzüglicher Ausführung werden angefertigt mittels
Rotationsphotographie Marke NPG

Neue Photographische Gesellschaft
AKTIENGESELLSCHAFT · N.P.G. · BERLIN-STEGLITZ 124

F. u. M. Lautenschläger
Königl. Hoflieferant
Frankfurt a/M. Berlin München

Hämatimeter
nach Dr. Sotiriades (Athen)
für die zytologische, bakteriologische und serodiagnostische Blut-Prüfung ausserhalb des Laboratoriums
Näheres im Prospekt 228

Otto Teschner :: Jena
Glastechnische Werkstätte
Spezial-Anfertigung des Spinalpunktionsapparates
nach **Dr. Reichmann.** D.R.G.M.

E. Merck, chem. Fabrik, Darmstadt
liefert
Alle Präparate für mikroskopische Zwecke,
mikrochemische Reagentien, Farbstoffe, Farbstoffkombinationen, Härtungs- und Einbettungsmittel, Untersuchungsflüssigkeiten, Einschlussmedien und Nährböden etc., sowie alle Präparate für photogr. Zwecke.
Zu beziehen durch sämtliche Apotheken und Grossdrogerien!

Generated on 2019-09-15 15:25 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Tüchtiger, erfahrener Bakteriologe

mit guten Referenzen von größerem Serum-Institut **gesucht.** Angebote mit Gehaltsansprüchen und Zeugnisabschriften unter **P. C. 8989** an **Haasenstein & Vogler A.-G. Berlin W. 8.**

F. Kral's bakteriologisches Museum

Prof. R. Kraus u. Doz. E. Přibram

Wien IX, Zimmermanngasse 3

(Abgabe von Bakterien, Hefen, Pilzen, Musealkulturen, mikroskopischen Präparaten von Mikroorganismen, Photogrammen, Diapositiven und Nährböden).

Wir beabsichtigen das von F. Kral begründete bakteriologische Museum zu ergänzen und eine **Centralstelle** aller bekannten Mikroorganismen zu schaffen. Aus diesem Grunde ergeht an die P. T. Vorstände der bakteriolog. Institute die Bitte, dem Museum die Listen der Institutssammlung überlassen zu wollen und in Tauschverkehr zu treten.

Die Herren Autoren werden gebeten, die neugezüchteten Originalkulturen dem Museum überlassen zu wollen. Die Kulturen stehen jederzeit dem Autor kostenfrei zur Verfügung.

Ernst Leitz

Berlin NW. 6, Luisenstraße 45



Mikroskope und Laboratoriumsbedarf

Komplette Einrichtung von mikroskopisch-bakteriologischen und Krankenhaus-Laboratorien

Apparate und Gerätschaften für Sterilisation, Serologie und Hygiene

Sämtliche Farbstoffe und Reagentien für Mikroskopie und Bakteriologie. Makro- und mikrophotographische Arbeiten werden sachgemäß ausgeführt

Preislisten und Kosten-Anschläge stehen kostenlos zur Verfügung

Digitized by Google

Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-15 15:25 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

Einführung in die höhere Mathematik

für Naturforscher und Aerzte.

Von **Dr. J. Salpeter.**

Mit 147 Figuren im Text. (XIII, 336 S. gr. 8°.)

1913. Preis: 12 Mark, geb. 13 Mark.

Inhalt: Erster Teil: **Differentialrechnung.** 1. Begriff des Grenzwertes einer unendlichen Zahlenfolge. — 2. Begriff der Funktion und der Ableitung einer Funktion. — 3. Naturwissenschaftliche Beispiele für Ableitungen von Funktionen. — 4. Aufgabe der Differentialrechnung. — 5. Differentiation der rationalen und trigonometrischen Funktionen. — 6. Inverse Funktionen. Differentiation derselben. — 7. Höhere Ableitungen. — 8. Maxima und Minima. — 9. Der natürliche Logarithmus und die Exponentialfunktion. — 10. Partielle Ableitungen. — 11. Der Mittelwertsatz und seine Anwendungen. — 12. Einfach unendliche Kurvenscharen. Gewöhnliche Differentialgleichungen zweiter Ordnung. — 13. Mathematische Behandlung naturwissenschaftlicher Probleme. — Zweiter Teil: **Integralrechnung.** 1. Die Grundformeln der Integralrechnung. — 2. Die Technik des Integrierens. — 3. Integration mittels Partialbruchzerlegung. — 4. Trennung der Variablen. — 5. Vollständige Differentiale. — 6. Gewöhnliche Differentialgleichungen zweiter Ordnung. — 7. Bestimmte Integrale. — 8. Der zweite Hauptsatz der Thermodynamik. — **Anhang.** Taylorsche Reihenentwicklungen. — Stetige und unstetige Funktionen.

Zentralblatt für Biochemie und Biophysik, 1913, Bd. 15, Nr. 12/13:

Die vorliegende Einführung in die höhere Mathematik für Naturforscher und Aerzte ist nun nicht nur als ein sehr modernes, wohldurchdachtes Werk zu bezeichnen, sondern der Gegenstand ist auch in einer so anziehenden, lebhaften Form dargestellt, daß das Interesse sofort gefangen genommen und durch all die manchmal gewiß nicht leichten Entwicklungen hindurch wach gehalten wird. Ein wesentlicher Teil dieses Erfolges beruht auf der geschickten, man möchte fast sagen spannenden Gruppierung der zahlreichen, ausführlichen Uebungsaufgaben, die der chemischen und biochemischen Dynamik, der Thermodynamik und der jüngsten Entwicklung der Physik entnommen sind, somit nicht nur zu einer Gewandtheit in der Anwendung der mathematischen Sätze verhelfen, sondern auch sonst dem Biologen nützliche Kenntnisse vermitteln. Bemerkt sei noch, daß dabei auch weitgehende Rücksicht darauf genommen wird, daß die Leser, für die das Werk bestimmt ist, das meiste, was sie in der Jugend von der Mathematik wußten, vergessen haben. A. Kanitz.

Münchener medizinische Wochenschrift, Nr. 28 vom 15. Juli 1913:

Die eigenartige Auswahl und Behandlung des Stoffes in der vorliegenden Einführung in die höhere Mathematik geschah, wie der Verfasser in der Vorrede betont, auf Grund mannigfacher Erfahrungen, welche er beim persönlichen Unterricht zu sammeln Gelegenheit hatte, und welche ihn gelehrt hatten, bei der Strenge und Exaktheit der Definitionen und Beweisführungen eine gewisse obere Grenze einzuhalten. Dafür wird umsomehr Gewicht auf die Klarheit und Anschaulichkeit in den Entwicklungen gelegt. Es ist das sehr zu begrüßen, denn das Verständnis der grundlegenden Begriffe nach Möglichkeit zu erleichtern ist eine der wichtigsten Aufgaben einer Einführung in die höhere Mathematik. Als weiterer Vorzug ist die Reichhaltigkeit des Gebotenen zu nennen; es werden die wichtigsten Methoden sowohl der Differential- wie der Integralrechnung behandelt und die Anwendung derselben durch zahlreiche Beispiele aus der Physik und Chemie, aus Physiologie und Serologie erläutert. Dementsprechend ist nur zu wünschen, daß das Buch, dessen Druck und Ausstattung vorzüglich sind, sehr viele Freunde finden möge, nicht nur unter den Naturforschern, sondern auch namentlich unter den Aerzten, da ja bekanntlich die Vertiefung der Probleme auch in der Medizin vielfach Hilfsmittel der höheren Mathematik erfordert. L. Lindemann-München.

Berliner klinische Wochenschrift, Nr. 43 vom 27. Oktober 1913:

Der Verf. hat in einer originellen, vorzüglichen Weise die Differential- und Integralrechnung dargestellt und sie mit sehr zahlreichen Beispielen aus Physik, Chemie und Biologie belegt. Das Buch kann als vortrefflich gelungen bezeichnet werden und wird besonders bei denjenigen, die ein tieferes Eindringen in die Mathematik erstreben, mit großem Nutzen studiert werden; sie werden mancherlei Darstellungen finden, die wirklich anziehend und klärend wirken.

Ausführlicher, illustrierter Prospekt kostenfrei.

Diesem Heft liegt ein Prospekt bei von **G. Rüdenberg jun.** in **Hannover** betr. **„Photographische Apparate".**

Frommann'sche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Digitized by Google

Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-15 15:25 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Generated on 2019-09-15 15:25 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Digitized by Google

Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-15 15:25 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

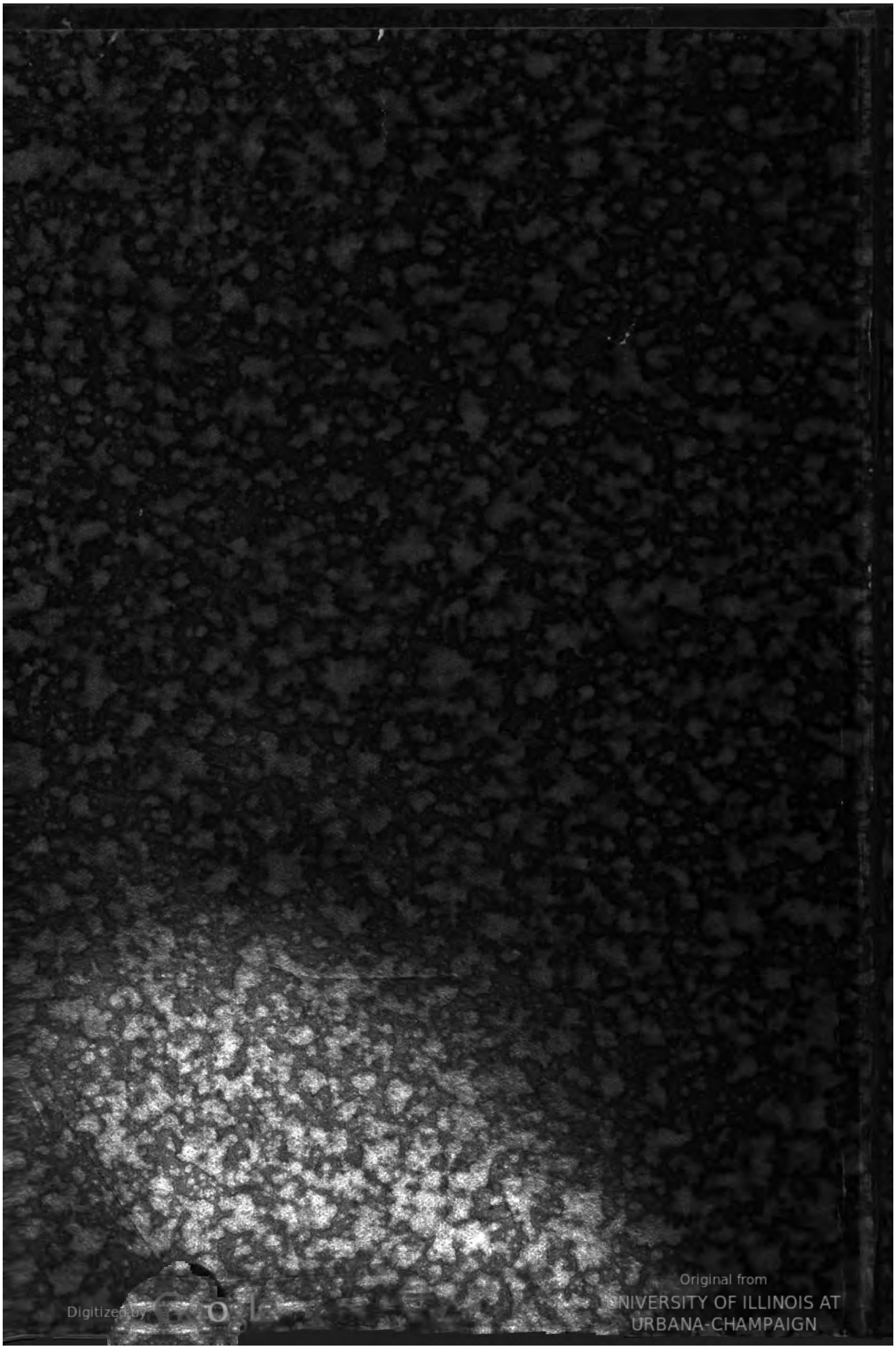
Digitized by Google

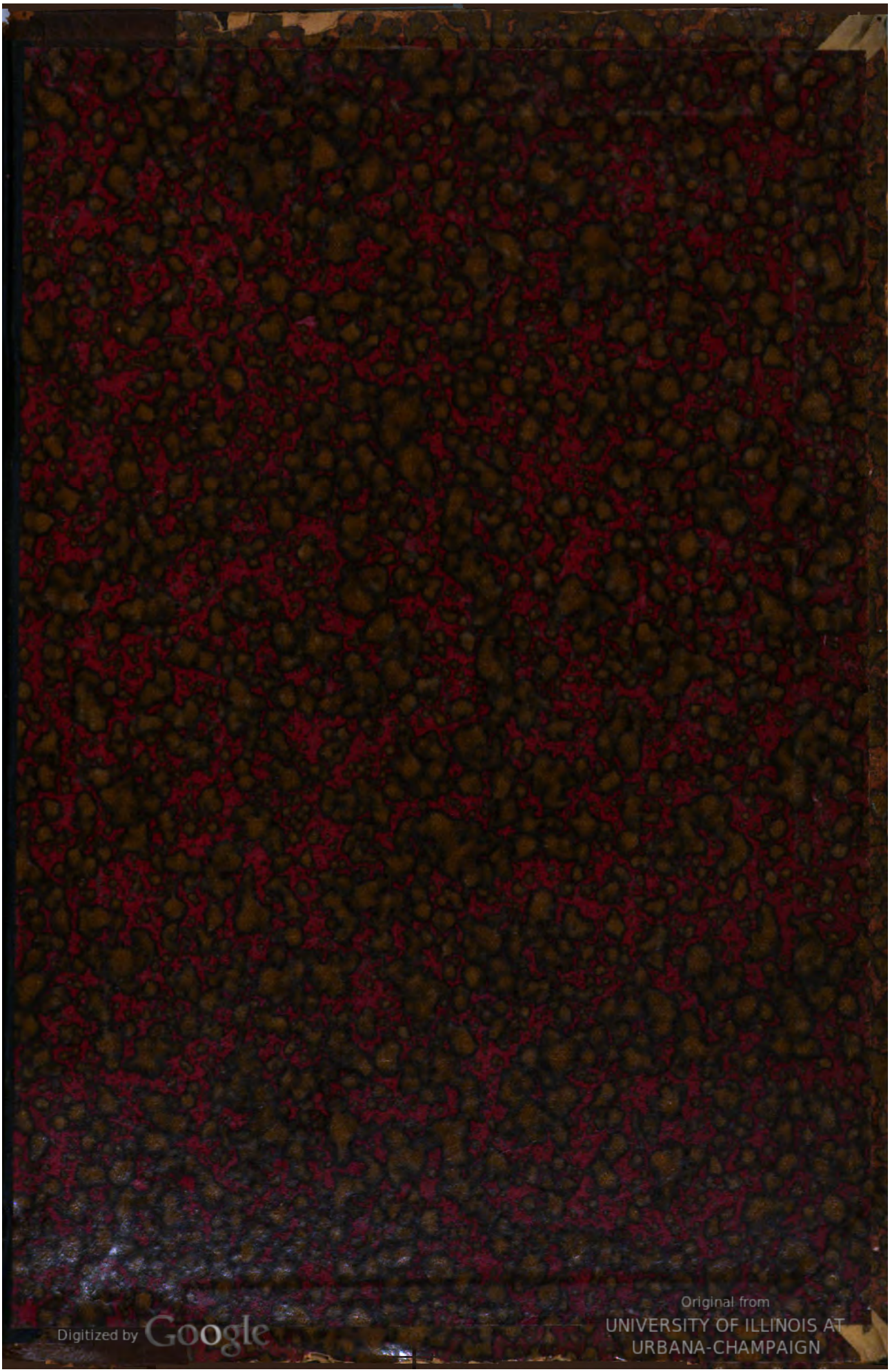
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-15 15:25 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Digitized by Google

Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN


Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:25 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google


Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:25 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

UNIVERSITY OF ILLINOIS-URBANA
589.05CE C001
ZENTRALBLATT FUR BAKTERIOLOGIE, PARASITE
73 1914
3 0112 105326265

Digitized by Google

Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-15 15:25 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112105326265
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google